Archiv für Hygiene und Bakteriologie


SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS

ARCHIV

FÜR

HYGIENE.

UNTER MITWIRKUNG VON

Prof. Dr. O. BOLLINGER, München; Prof. Oberstabsarzt Dr. H. BUCHNER, München; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. F. ERISMANN, Moskau; Prof. Dr. J. v. FODOR, Budapest; Prof. Dr. M. GRUBER, Wien; Prof. Dr. A. HILGER, München; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. K. LEHMANN, Würzburg; Generalarzt Dr. J. PORT, Würzburg; Prof. Dr. F. RENK, Halle; Oberstabsarzt Dr. A. SCHUSTER, München; Prof. Dr. G. WOLFFHÜGEL, Göttingen.

HERAUSGEGEBEN

VON

J. FORSTER, FR. HOFMANN, M. v. PETTENKOFER, M. RUBNER,

O.Ö. PROFESSOREN DER HYGIENE UND DIRECTOREN DER HYGIENISCHEN INSTITUTE AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

AMSTERDAM LEIPZIG MÜNCHEN BERLIN.

ZWEIUNDZWANZIGSTER BAND.

MÜNCHEN UND LEIPZIG.

DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG.

1895.


PUBLIC
HEALTH
LIBRARY

Inhalt.

Zersetzungen zuckerhaltigen Nährmateriales durch den Vibrio cholerae asiaticae Koch.

Von

Dr. med. **B. Gosio,**
aus Rom.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität zu Berlin.)

Die Fähigkeit des Vibrio Koch, beim Cultiviren in traubenzuckerhaltigen Peptonlösungen l-Milchsäure zu bilden, wurde schon von Kuprianow[1]) ermittelt. Dieser Autor machte seine Untersuchungen an dem bei Gelegenheit der Hamburger Cholera isolirten Vibrio. Weitere Untersuchungen von mir[2]) an anderen Vibrionen, welche den Choleraepidemien der letzten Jahre entstammten, ergaben, dass es sich hier um eine constante Eigenschaft handelt, welche, obwohl sie durchaus nicht als specifische zu betrachten ist, unter besonderen Umständen dazu dienen kann, Keime, welche sich morphologisch gleichen, von einander zu unterscheiden.

Im Folgenden erlaube ich mir, die Resultate weiterer Untersuchungen mitzutheilen, welche das genauere Studium der Einwirkung des Vibrio Koch auf zuckerhaltiges Nährmaterial zum Gegenstand haben.

Die Nährflüssigkeit hatte dieselbe Zusammensetzung wie bei meinen früheren Versuchen; sie enthielt, um das noch einmal

---

1) Archiv f. Hygiene, Bd. XIX, S. 282.

2) Dasselbe, Bd. XXI, S. 114.

kurz zu wiederholen, 1 % Pepton Witte, 5 % Glukose, 2,5 % Calciumcarbonat und die nöthige Menge Soda.

Das Verfahren der Herstellung steriler Lösungen ist von mir etwas verändert worden. Da diese Modification in einer wesentlichen Vereinfachung besteht und sich sehr gut bewährt hat, soll sie zunächst mitgetheilt werden.

Um 3 l Nährflüssigkeit herzustellen, löst man unter Erwärmen 30 g Pepton in 1 l destillirten Wasser, fügt 30 ccm Normalsodalösung hinzu, filtrirt von der entstandenen Trübung ab und bringt das Filtrat mit destillirtem Wasser auf 2 l. Diese alkalische Peptonlösung wird in einen ca. 4 l enthaltenden Kolben mit 75 g Calciumcarbonat gebracht.

In einem anderen Kolben werden 150 g Traubenzucker in 1 l Wasser gelöst. Beide Flüssigkeiten, aus deren Mischung die Nährlösung entstehen soll, müssen zunächst getrennt sterilisirt werden, da die Anwesenheit des Alkali während der Sterilisation im Dampftopfe eine starke Zersetzung des Zuckers hervorrufen würde.

Nach der Sterilisation mischt man beide Lösungen; muss jedoch hierbei besondere Vorsichtsmaassregeln treffen, um das Eintreten der Keime aus der Luft zu verhindern.

Zu diesem Zweck hat Kuprianow[1]) eine Methode angegeben, nach deren Princip ich auch zu Anfang gearbeitet habe; obgleich diese Methode im Allgemeinen den Erfordernissen entspricht, so haften ihr doch einige Unvollkommenheiten an.

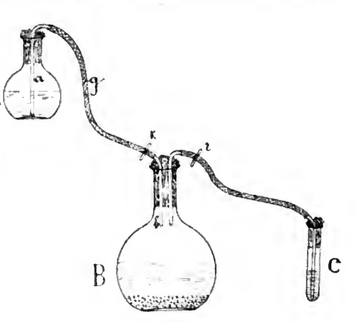
Die Kolben, welche man, auf den Rath von Kuprianow, mit Kautschuckstopfen versieht, platzen oft in Folge des starken Druckes, welcher sich beim Sterilisiren im Dampftopf entwickelt: die kleinen Röhrchen, welche durch den Kautschuckpfropfen führen, genügen häufig nicht, um die sich im Uebermaass entwickelnden Dämpfe entweichen zu lassen. Ausserdem muss man die sterilisirte Zuckerlösung durch starkes Blasen von einem Kolben in den anderen treiben, was in der That mit grosser Anstrengung verbunden ist, und die Gefahr nicht ausschliesst, Keime in die Mischung gelangen zu lassen. Schliess-

1) a. a. O.

lich können sich die Kulturen wegen Mangels an Sauerstoff nicht gut entwickeln, da die Pfropfen den Eintritt der Luft zu den Gefässen verhindern. — Deshalb ist man genöthigt, wie Kuprianow selbst angab, nach der Impfung die Gummipfropfen durch Wattepfropfen zu ersetzen.

Nach mehrfachem Probiren fand ich, dass man seinen Zweck durch folgendes sehr einfache Verfahren erreicht.

Beide Kolben *A* und *B* (siehe Abbildung) werden mit Wattebausch versehen und sterilisirt; in den Kolben *A* bringt man die Zuckerlösung, in den Kolben *B* die alkalische Peptonlösung und das Calciumcarbonat. Durch jeden Wattepfropf führt eine im entsprechenden Winkel gebogene Glasröhre. Das Rohr *a* erreicht den Boden des Gefässes, während das Rohr *b* kurz unterhalb der Watte abschneidet. *a* und *b* sind durch einen Gummischlauch verbunden, welcher länger ist als *a*. Ist alles zum Sterilisiren fertig, so schliesst man den Gummischlauch mittelst einer Klemme *K* an seinem Verbindungsstück mit der Glasröhre *b* von derselben ab. Es ist unbedingt nöthig, darauf zu achten, dass das Ende des Gummischlauches über der Klemme länger ist, als das senkrecht stehende Röhrchen *a*.



Beide Kolben werden nun zusammen in einem grossen Dampftopf sterilisirt. Durch die hohe Temperatur und grosse Dampfentwickelung, wird alle Luft aus den Kolben, resp. den dazu gehörigen Röhrchen entfernt. Nach bekannten physikalischen Gesetzen steigt nun die Flüssigkeit in das luftleere Röhrchen *a* und den Schlauch *g* bis an die Klemme. — Erhöht man den

Kolben *A* und entfernt nach der Abkühlung die Klemme, so muss die Flüssigkeit von *A* nach *B* laufen. — Am Ende der Operation zieht man das Röhrchen *b* vorsichtig heraus, und schüttelt das Gefäss *B*, um eine gleichmässige Vertheilung der Mischung zu erzielen, worauf, meiner Meinung nach, die Impfung gleich vorgenommen werden kann. Bei keinem der auf diese Weise hergerichteten Kolben habe ich einen Misserfolg gehabt: die Flüssigkeiten, welche der grösseren Vorsicht halber noch einige Tage zur Beobachtung bei Brutwärme stehen gelassen wurden, blieben immer vollständig klar.

Diese Methode ist wegen ihrer Einfachheit und des guten Erfolges in allen Fällen, wo man Lösungen getrennt sterilisiren muss, sehr zu empfehlen. Anstatt der Zuckerlösung kann man auch die Peptonlösung hinüberhebern, was von Vortheil ist, da auf diese Weise die Nährlösung die gesammte Zuckermenge ohne jeden Verlust enthält; anderenfalls ist es nothwendig, durch Titration die im Kolben und Glasröhrchen zurückgebliebene Quantität zu bestimmen und sie von der Totalquantität zu subtrahiren. Will man die Sterilisation der Zuckerlösung bei Anwesenheit von Calciumcarbonat vornehmen, so darf dieselbe nicht ein bestimmtes Zeitmaass überschreiten. (Nach dem Rath von Kuprianow soll man die Kolben an drei aufeinanderfolgenden Tagen, und zwar an jedem Tage drei Stunden sterilisiren.) Wird das Kochen zu lange fortgesetzt, so findet auch durch Einwirkung des Calciumcarbonat eine Zersetzung des Zuckers in geringem Maasse statt, was sich durch die braune Färbung der Flüssigkeit zu erkennen gibt. Nach meinen Erfahrungen ist eine Sterilisation von 20—25 Minuten an drei aufeinanderfolgenden Tagen vollkommen genügend, besonders wenn man die Vorsicht gebraucht hat, die Gummischläuche durch Sublimat und die Kolben nebst Röhrchen und Calciumcarbonat im Trockenofen zuerst zu sterilisiren.

Um die Impfung vorzunehmen, wurde entweder eine junge Agarcultur verwendet, oder es wurde eine Peptoncultur nach oben angegebener Methode der Nährlösung zugefügt. Zu diesem Zweck dient ein Reagenzglas *C* (siehe Abbildung), welches ganz in

derselben Weise armirt ist, wie der Kolben *A*. Dieses Reagenzglas enthält eine 1%ige Peptonlösung, wird mit beiden Kolben zusammen sterilisirt und alsdann inficirt. Hat sich die Cultur entwickelt, so hebt man das Reagenzglas hoch, öffnet die Klemme *r* und lässt die Cultur in den Kolben *B* fliessen. Ein Wasserbad, dessen Temperatur von 30—38° schwankte, nahm die Culturen auf. Da ich über die angewandte Untersuchungsmethode schon in meiner vorhergehenden Mittheilung sprach, so erwähne ich dies nicht noch einmal, sondern wende mich gleich zu den Versuchen, welche sich in folgender Weise gruppiren lassen:

1. Die zeitlichen Verhältnisse der Milchsäurebildung und ihre Beziehung zur Zuckerzersetzung.

2. Die Natur der flüchtigen Säure, die zeitlichen Verhältnisse ihrer Bildung und ihre Beziehung zur Zuckerzersetzung, quantitative Bestimmung der flüchtigen Säure.

3. Die zeitlichen Verhältnisse der Gesammtsäurebildung und ihre Beziehung zur Zuckerzersetzung, sowie ihre Abhängigkeit von Temperatur, Zusammensetzung der Nährlösung u. s. w.

4. Alkoholische und aldehydische Producte, quantitative Bestimmung des Alkohols.

5. Gasförmige Producte, speciell Kohlensäure.

6. Untersuchung der Zersetzungsproducte, welche auftreten, wenn der Traubenzucker in der Nährlösung durch andere Kohlehydrate ersetzt ist.

7. Untersuchung der Zersetzungsproducte, welche in zuckerhaltigen, aber eiweissfreien Nährlösungen auftreten.

8. Untersuchung der Zersetzungsproducte, welche andere Vibrionen in zuckerhaltigen Nährlösungen bilden.

I. Die zeitlichen Verhältnisse der Milchsäurebildung und ihre Beziehung zur Zuckerzersetzung.

Was nun meine erste Frage betrifft, so verwandte ich vier Dreilitercalturen, von denen die erste 7, die zweite 15, die dritte 21, die vierte 37 Tage im Wasserbade gehalten wurde. Die Resultate sind folgende:

Cultur von 7 Tagen. Wachsthum gut, aber keine sichtbare Bildung von Häutchen an der Oberfläche. Die Titration ergab im Ganzen 117,48 g Glukose; die Quantität war zu Anfang 149,26 g, es sind also 31,78 g zersetzt worden.

Alkohol wurde nachgewiesen.

Zur Neutralisirung der flüchtigen Säuren (hier wie in allen folgenden Fällen ein Liter Destillat) waren 173,3 ccm $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge erforderlich.

Die Quantität des Zinksalzes betrug 3,68 g.

Im Polarisationsapparat untersucht, dreht die Lösung des Zinksalzes rechts. 0,704 g Substanz bewirken in einem 2 dcm langen Rohre eine Ablenkung von $+ 0{,}80°$. Der Inhalt des Rohres ist 13 ccm. Bei Anwendung der Formel $(\alpha) D = \frac{v\,a}{p\,l'}$, in welcher v dem Inhalt des Rohres in Cubikcentimetern entspricht, p das Gewicht der in ihm enthaltenen polarisirenden Substanz, l' die Länge des Rohres in Decimetern und a die abgelesene Drehung, ergibt sich für das Zinksalz die specifische Drehung $(\alpha) D = + 7{,}38$.

0,533 g krystallisirte und lufttrockene Substanz verlieren bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,066 g Wasser. Das entspricht 12,38% Krystallwasser.

0,533 g Substanz liefern beim Glühen 0,156 g ZnO. Das entspricht 29,26% ZnO.

Cultur von 15 Tagen. Wachsthum wie oben. Die Titration ergab im Ganzen 97,90 g Glukose. Die Quantität war zu Anfang 147,11 g; es sind also 49,21 g zersetzt worden.

Alkohol und Spuren von Aldehyd wurden constatirt.

Zur Neutralisirung der flüchtigen Säuren waren 238,5 $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge erforderlich.

Die Quantität des Zinksalzes betrug 12,15 g.

Abgelesene Drehung $+ 0{,}97°$, Substanz 0,882 g, also $(\alpha) D = + 7{,}14$.

0,410 g krystallisirte und lufttrockene Substanz verlieren bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,052 g Wasser. Das entspricht 12,68% Krystallwasser.

0,600 g Substanz liefern beim Glühen 0,172 g ZnO. Das entspricht 28,66% ZnO.

Cultur von 21 Tagen. Wachsthum sehr gut; Bildung eines Häutchens an der Oberfläche. Die Titration ergibt im Ganzen 95,5 g Glukose; die Quantität war zu Anfang 150 g. Es sind also 54,5 g zersetzt worden

Alkohol wurde in verhältnismässig grösserer Menge, Aldehyd in Spuren nachgewiesen.

Zur Neutralisirung der flüchtigen Säuren waren 288,5 ccm $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge erforderlich.

Die Quantität des Zinksalzes betrug 13,08 g.

Abgelesene Drehung + 1,00°, Substanz = 0,921 g, also $(\alpha) D = + 7{,}05$.

0,382 g krystallisirte, lufttrockene Substanz verlieren bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,050 g Wasser. Das entspricht 13,35 % Krystallwasser.

0,382 g Substanz liefern beim Glühen 0,109 g ZnO. Das entspricht 28,54 % ZnO.

Cultur von 37 Tagen. Wachsthum sehr gut; doch keine Häutchenbildung an der Oberfläche. Die Titration ergab im Ganzen 86,4 g Glukose; die Quantität war zu Anfang 150 g. Es sind also 63,6 g zersetzt worden.

Alkohol wurde constatirt.

Zur Neutralisirung der flüchtigen Säuren waren 310,5 ccm $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge erforderlich.

Die Menge des Zinksalzes erreicht 15,42 g.

Abgelesene Drehung + 0,93°, Substanz 0,814 g, also $(\alpha) D = + 7{,}42$.

0,613 g krystallisirte lufttrockene Substanz verlieren bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,077 g Wasser. Das entspricht 12,56 % Krystallwasser.

0,613 g Substanz liefern beim Glühen 0,176 g ZnO. Das entspricht 28,71 % ZnO.

Aus den vier Versuchen interessiren uns an dieser Stelle zunächst die für Zuckerzersetzung und Milchsäurebildung erhaltenen Werthe. Sie sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Dauer des Versuchs	Menge des zersetzten Zuckers	Menge des erhaltenen milchsauren Zinks	Verhältnis des zersetzten Zuckers zu dem erhaltenen milchsauren Zink
168 Stunden	31,78 g	3,68	1 : 0,11
360 „	49,21 „	12,15	1 : 0,24
504 „	54,5 „	13,08	1 : 0,24
888 „	63,6 „	15,42	1 : 0,24

Es drängt sich nun zunächst die Frage auf: entspricht die von mir erhaltene Säuremenge in der That der gebildeten, oder mit anderen Worten, ist die Bestimmung der Milchsäure eine quantitative?

Von vornherein war anzunehmen, dass dies nicht der Fall sei. Die Schwierigkeit, die Milchsäure der wässerigen Lösung durch Aether völlig zu entziehen, die Nothwendigkeit, das Zinksalz zum

Zweck der Reinigung wiederholt und unter Benutzung von Thierkohle umzukrystallisiren, stellten sich einer quantitativen Ausbeute hindernd in den Weg. Um festzustellen, wie gross annähernd die Verluste, mit denen das von mir benutzte Verfahren arbeitet, seien, habe ich zwei Controlversuche ausgeführt. Dreiliterculturen der gleichen Zusammensetzung wie die, welche für die Infection mit Vibrio Koch hergerichtet waren, wurden statt dessen mit bekannten Mengen von l-milchsaurem Zink versetzt und ganz der gleichen Behandlung unterworfen, wie sie in den oben erwähnten Versuchen angewandt worden war. Ich fügte Oxalsäure hinzu, dampfte bis zum dünnen Syrup ein, schüttelte viermal mit ungefähr 2 l Aether je 15—20 Minuten aus und destillirte den Aether unter Zusatz von etwas Wasser ab. Der Rückstand wurde mit Zinkcarbonat gekocht, heiss filtrirt und auf kleines Volumen eingedampft. Beim Stehenlassen schied sich die erste krystallinische Masse ab. Die Mutterlauge wurde dekantirt, eingedampft und wieder der Krystallisation überlassen. Dieses Verfahren wiederholte ich, so oft sich noch Krystalle abschieden. Sämmtliche krystallinische Massen wurden durch Umkrystallisiren gereinigt, mit Thierkohle entfärbt, an der Luft getrocknet und gewogen.

	Quantität des Zinksalzes	
	zugefügt	wiedererhalten
Controlversuch 1	10 g	6,27 g = 62,7 %
Controlversuch 2	5 g	2,44 g = 48,8 %.

37,3 resp. 51,2 % haben sich dem Nachweis entzogen, und zwar ist der Verlust um so grösser, je kleiner die der Lösung zugefügte Menge Milchsäure. Die oben erhaltenen Werthe können also nur einen relativen Werth beanspruchen. Doch ergibt sich aus ihnen unzweifelhaft, dass während der ganzen Versuchsdauer Milchsäure gebildet wird, in den ersten beiden Wochen reichlich, in der dritten und vierten nur noch ganz unbedeutend, und ferner, dass Zuckerzersetzung und Milchsäurebildung Hand in Hand gehen. Die Ausnahme, welche der 168-Stunden-Versuch in dieser letzteren Beziehung macht, ist nur eine scheinbare;

sie erklärt sich ohne Weiteres durch die Controlversuche, aus denen ja hervorgeht, dass von kleinen Mengen Milchsäure relativ viel weniger wiedergefunden wird, als von grösseren.

2. Die Natur der flüchtigen Säure, die zeitlichen Verhältnisse ihrer Bildung und ihre Beziehung zur Zuckerzersetzung, quantitative Bestimmung der flüchtigen Säure.

Ueber die flüchtigen Säuren, die sich in Zuckerpeptonculturen des Vibrio Koch bilden, weiss man bis jetzt nur wenig. Die Untersuchungen von Kuprianow, dem es in erster Linie darauf ankam, die Natur der fixen Säure festzustellen, berücksichtigte die flüchtigen Säuren so gut wie gar nicht. Man kann aus ihnen nur entnehmen, dass flüchtige Säuren gebildet werden, aber in ihrer Menge sehr hinter der Milchsäure zurückbleiben. Die Quantität, welche in einer Dreilitercultur während drei Wochen gebildet war, erforderte zur Neutralisation 11,1 ccm $^1/_{10}$ N.-Natronlauge.

Die flüchtigen Säuren verdienen aber unzweifelhaft eine eingehendere Berücksichtigung, sie finden sich ganz ausnahmslos und in nicht unerheblichen Mengen unter den Stoffwechselproducten des Vibrio Koch, spielen also für das Verständnis des Zersetzungsmodus jedenfalls eine nicht unwichtige Rolle.

Es kam mir zunächst darauf an, eine qualitative Untersuchung auszuführen. Zu diesem Zweck destillirte ich eine grosse Anzahl Traubenzuckerpeptonculturen, welche verschieden lange Zeit (1 bis 5 Wochen) bei Bruttemperatur gestanden hatten, unter Zusatz von Oxalsäure. Die Destillate wurden vereinigt, mit Natronlauge genau neutralisirt und auf dem Wasserbad eingeengt. Die concentrirte Lösung erhitzte ich mit Thierkohle und filtrirte. Beim Eindampfen erstarrte die Masse krystallinisch. Es wurden zunächst folgende Reactionen angestellt:

1. Eine kleine trockene Portion der Substanz wird mit absolutem Alkohol und einigen Tropfen concentrirter Schwefelsäure versetzt. Schon in der Kälte entwickelt sich allmählig ein ananasähnlicher Geruch, welcher auf Anwesenheit von Buttersäureäthylester schliessen lässt. Beim Erhitzen verschwindet

dieser Charakter, während sich eine starke Entwickelung von Essigäthylester bemerkbar macht. Nachdem sich die Flüssigkeit genügend abgekühlt hatte, tritt wieder der erstere, an Ananas erinnernde Geruch zu Tage.

Die wässerige Lösung der Substanz verhält sich folgendermaassen:

2. Durch Eisensesquichlorid entsteht eine starke, rothe Färbung. Beim Erhitzen entfärbt sich die Lösung vollständig, und man erhält einen starken, braunrothen Niederschlag.

Auch ohne Erhitzen, nur beim längeren Stehenlassen, scheidet sich ein flockiger, rother Niederschlag ab, wobei jedoch die Flüssigkeit immer roth gefärbt bleibt.

3. Silbernitrat bewirkt einen weissen Niederschlag, welcher sich am Licht bräunt.

4. Bei Behandlung mit salpetersauren Quecksilberoxydul erhält man ebenfalls einen weissen Niederschlag, welcher sich beim Erhitzen bräunt.

Nach diesen Reactionen zu urtheilen, kann man annehmen, dass Essigsäure, sowie auch höchst wahrscheinlich Buttersäure vorliegen. Um aber das Vorhandensein der Buttersäure sicher festzustellen, genügen diese Proben nicht. Ich stellte daher folgende Untersuchungen an. Der noch vorhandene Rest der Natronsalze wurde mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und wiederholt mit viel Aether stark geschüttelt. Der Aether wurde hierauf bei Anwesenheit von Wasser abdestillirt, der Rückstand mit Baryt gekocht und der Ueberschuss des letzteren durch Einleiten von Kohlensäure entfernt. Als das Filtrat nach abermaligem Durchleiten eines Kohlensäurestromes keine Trübung mehr zeigte, dampfte ich auf kleines Volumen ein. Nach längerem Stehen bildete sich eine geringe Abscheidung, welche grösstenteils aus glänzenden Blättchen bestand und zu zwei Barytbestimmungen genügte. Die Substanz wurde bei 100° getrocknet, die Ermittelung des Barytgehaltes geschah in bekannter Weise.

0,201 g Substanz lieferten 0,155 g $BaSO_4$ = 0,1017 g BaO, d. h. 50,59% BaO
0,132 g » » 0,104 g » = 0,068 g » » » 51,51% »

Die Theorie verlangt für buttersaures Baryum 49,51 % Ba O, für essigsaures Baryum 60,60 % Ba O, für valeriansaures Baryum 45,14 % Ba O.

Die analysirte Substanz bestand also wahrscheinlich aus buttersaurem Baryum, dem eine kleine Quantität des essigsauren Salzes beigemengt war.

Bei dem Destillationsproduct von drei alten Choleraculturen (5—7 Wochen) konnte man, dem Geruch nach zu urtheilen, auf Anwesenheit von Isopropylessigsäure schliessen.

Durch wiederholtes Destilliren, bei welchem nur immer die ersten Portionen des Destillats zur Verwendung kamen, erhielt man am Ende ein Product, welches mit Natronlauge genau neutralisirt, bei Behandlung mit $MgSO_4$ oder $ZnSO_4$ eine Trübung zeigte. Bei Prüfung mit $CaCl_2$ oder $BaCl_2$ blieb die Flüssigkeit vollständig klar. Die Isovaleriansäure wurde bei alten Culturen gefunden; damit soll aber nicht gesagt sein, dass sie bei jungen fehlt.

Die Versuche, die Isopropylessigsäure und Buttersäure als ölige Substanz aus der wässerigen Lösung abzuscheiden, verliefen resultatlos.

Man kann aus den angeführten Untersuchungen den Schluss ziehen, dass die flüchtigen Säuren regelmässig Buttersäure und Essigsäure enthalten. Ueber das Mengenverhältnis vermag ich nichts Sicheres anzugeben.

Von einer quantitativen Bestimmung der flüchtigen Säuren wurde zunächst abgesehen. Es ist bekanntlich sehr langwierig, dieselben aus wässerigen Lösungen vollständig abzudestilliren. Da die Culturflüssigkeiten auch zur Bestimmung der Milchsäure dienten, fürchtete ich, dass während des anhaltenden Kochens eine Zersetzung dieser Säure stattfinden möchte. Ich habe es deswegen vorgezogen, aus den Dreiliterculturen stets nur einen Liter abzudestilliren und zwar unter gleichzeitiger Einleitung von Wasserdampf. Auf diese Weise erhielt ich allerdings keine quantitativen, aber doch vergleichbare Werthe.

Dauer des Versuchs[1])	Menge des zersetzten Zuckers	Menge der erhaltenen flüchtigen Säure auf H_2SO_4 berechnet	Verhältnis des zersetzten Zuckers zur erhaltenen flüchtigen Säure	Verhältnis des zersetzten Zuckers zum erhaltenen milchsauren Zink[2])
168 Stunden	31,78 g	0,85 g	1 : 0,0267	1 : 0,11
360 „	49,21 „	1,17 „	1 : 0,0238	1 : 0,24
504 „	54,5 „	1,41 „	1 : 0,0258	1 : 0,24
888 „	63,6 „	1,52 „	1 : 0,0239	1 : 0,24

Es ergibt sich aus dieser Tabelle, dass flüchtige Säuren schon in der ersten Woche gebildet werden. Je älter die Cultur, um so mehr Säure wird gefunden, aber die Zunahme ist keine gleichmässige, sie wird mit dem Alter der Cultur immer geringer, so dass nach fünf Wochen nicht einmal das Doppelte der nach acht Tagen gebildeten Quantität erreicht ist.

Zuckerzersetzung und Bildung von flüchtigen Säuren laufen parallel. Es gilt also für die Verhältnisse der Bildung der flüchtigen Säuren ganz dasselbe, was für die Bildung der Milchsäure festgestellt wurde.

Ganz einwandfrei sind allerdings die aus den Versuchen gezogenen Schlussfolgerungen nicht. Die einzelnen flüchtigen Säuren destilliren aus wässerigen Lösungen nicht gleich leicht über, wie mir folgende Experimente zeigten. Ich versetzte drei Liter Wasser mit bestimmten Mengen von Ameisensäure resp. Essigsäure und Buttersäure, destillirte in derselben Weise, wie bei den Culturflüssigkeiten geschehen war, unter Wasserdampfeinleitung je einen Liter ab und bestimmte im Destillat die Menge der Säure durch Titration.

		Eingebrachte Menge	Wiedergefundene Menge	Mittel
Ameisensäure . .	a	0,184 g	0,033 g = 18,0 %	15,8 %
	b	0,690 „	0,094 „ = 13,6 %	
Essigsäure . . .	a	0,792 „	0,220 „ = 27,8 %	30,5 %
	b	0,634 „	0,211 „ = 33,2 %	
Buttersäure . .	a	0,510 „	0,248 „ = 48,6 %	48,0 %
	b	0,255 „	0,121 „ = 47,4 %	

1) Es sind dies dieselben Culturen, welche auch zur Bestimmung der Milchsäure gedient hatten, siehe S. 7.

2) Aus der Tabelle S. 7 übernommen.

Es ergibt sich daraus, dass die fetten flüchtigen Säuren um so leichter mit Wasserdämpfen übergehen, je höher ihr Molekulargewicht ist, wie man das ja auch von anderen Körpern weiss.

Eine Culturflüssigkeit, welche wesentliche Mengen von Buttersäure enthält, wird also ceter. par. ein viel saureres Destillat liefern, als eine andere, welche denselben Aciditätsgrad zeigt, deren Acidität aber vorwiegend durch Ameisensäure bedingt ist.

Meine Resultate sind aber nur dann vergleichbar, wenn während der ganzen Versuchsdauer die flüchtigen Säuren wenigstens annähernd stets in denselben Verhältnissen zu einander gebildet wurden. Ob diese Bedingung erfüllt ist, hat noch nicht mit genügender Sicherheit festgestellt werden können.

Um über die absolute Menge der in einer bestimmten Zeit gebildeten flüchtigen Säuren nicht ganz im Dunkeln zu bleiben, habe ich einige wenige quantitative Bestimmungen ausgeführt. Es dienten dazu 200 ccm Culturen. Die Destillation der mit Oxalsäure angesäuerten und vom Kalkniederschlag abfiltrirten Flüssigkeit wurde unter häufiger Erneuerung des verdunsteten Wassers fortgesetzt, bis ein Tropfen der übergegangenen Flüssigkeit keine Spur einer sauren Reaction mehr zeigte. Die Bestimmung geschah durch Titration mit $^1/_{10}$ N.-Natronlauge.

Dauer des Versuchs	Menge des zersetzten Zuckers	Menge der flüchtigen Säuren (H_2SO_4)	Verhältnis des zersetzten Zuckers zur flüchtig. Säure
504 Stunden (21 Tage)	4,79 g	0,43 g	1 : 0,09
1124 „ (51 „)	6,16 „	0,68 „	1 : 0,11

3. Die zeitlichen Verhältnisse der Gesammtsäurebildung und ihre Beziehung zur Zuckerzersetzung, sowie ihre Abhängigkeit von Temperatur, Zusammensetzung der Nährlösung u. s. w.

Wie wir sahen, war weder die Bestimmung der Milchsäure noch die der flüchtigen Säure eine quantitative. Um einen Einblick in die quantitativen Verhältnisse der Säurebildung zu gewinnen, habe ich mich eines, meines Wissens bisher noch nicht benutzten,

sehr einfachen und, wie die Erfahrung zeigte, sehr genauen Verfahrens bedient. Es bestand darin, die Gesammtmenge der gebildeten Säure durch die Menge des in Lösung gegangenen Kalkes festzustellen. Gleichzeitig wurde ermittelt, wie viel Zucker zersetzt war, um auf diese Weise die Beziehungen der Zuckerzersetzung zur Säurebildung kennen zu lernen.

Zur Verwendung kamen für dieses Experiment kleine Rundkolben von 350 ccm Inhalt. Die Nährlösung betrug in allen Fällen genau 200 ccm. Sie hatte dieselbe Zusammensetzung, wie die bisher benutzte, und war ebenfalls auf die oben beschriebene Weise sterilisirt worden. Es kam mir darauf an, die Versuche alle in jeder Beziehung möglichst gleichartig zu gestalten. Form und Grösse der benutzten Kolben waren annähernd gleich, alle standen in demselben Brutschrank, dessen Temperatur constant war, und wurden in gleichen Intervallen umgeschüttelt. Die Menge des Impfmaterials und das Alter der zur Infection benutzten Cultur waren gleich. Jeder Kolben wurde mit 0,2 ccm einer 1% Peptonlösung, die ¾ Tag vorher mit Vibrio Koch inficiert war, geimpft.

Am Ende der Versuche zeigte es sich, dass die Flüssigkeiten in allen Fällen trotz häufigen Umschüttelns sauer reagirten. Diese saure Reaction ist wohl zum grössten Theil auf Rechnung der gelösten Kohlensäure zu setzen, vielleicht wird sie aber theilweise auch durch freie organische Säure bewirkt. Um auch diese noch an Calcium zu binden, wurden die Versuchskolben zunächst 15 Minuten auf dem Wasserbad erhitzt; während dessen nahm die Flüssigkeit neutrale Reaction an. Nun erst begann die Untersuchung. Ein kleiner Theil diente zur Zuckerbestimmung, aus dem grösseren Rest wurde Kalk als oxalsaurer Kalk ausgefällt und als Calciumoxyd gewogen. Die so gewonnenen Kalkwerthe bedürfen aber einer kleinen Correctur. Es hatte sich nämlich herausgestellt, dass schon die Nährlösung vor der Impfung aufgelösten Kalk enthält. Derselbe ist zum grössten Theil als solcher im Pepton enthalten, zum Theil stammt er aus dem zugefügten Calciumcarbonat und geht durch Umsetzung dieses Salzes mit den im Pepton vorhandenen Chloriden und Sulfaten in Lösung. Die

Menge des in 200 ccm Nährlösung enthaltenen Kalks betrug im Durchschnitt mehrerer Bestimmungen 0,049 g. Sie wurde von der am Schluss der Versuche erhaltenen in Abzug gebracht.

Folgende Tabelle zeigt die erhaltenen Resultate:

Dauer des Versuchs	Menge des zersetzten Zuckers	Menge des gefundenen Calciumoxyds [1])	Verhältnis des zersetzten Zuckers zum gefundenen CaO
22 Stunden	0,407 g	0,083 g	1 : 0,2
72 „	1,19 „	0,368 „	1 : 0,3
144 „	2,04 „	0,610 „	1 : 0,3
216 „	2,87 „	0,673 „	1 : 0,23
360 „	4,45 „	1,017 „	1 : 0,23
504 „	4,79 „	1,199 „	1 : 0,25
672 „	5,06 „	1,238 „	1 : 0,24

Diese Tabelle bestätigt für die Gesammtsäure das, was für die Milchsäure und flüchtige Säure gefunden wurde. Vom Anfang der dritten Woche an nimmt die Intensität der Zuckerzersetzung und der Säurebildung erheblich ab. Beide Processe verlaufen annähernd parallel.

Weiterhin erschien es mir von Interesse, festzustellen, welchen Einfluss das Alter des Impfmaterials, Aenderungen der Temperatur, der Zusammensetzung der Nährlösung auf die Säurebildung habe.

Abgesehen von dem einen Factor, dessen Einfluss ermittelt werden sollte, stimmten die Versuche alle genau mit den zuletzt beschriebenen überein.

Versuch über den Einfluss des Alters des Impfmaterials auf die Säurebildung.

Zur Infection diente eine alte, abgeschwächte Agarcultur.

Dauer des Versuchs	CaO gefunden	Dauer des Versuchs	CaO gefunden
30 Stunden	0,094 g	132 Stunden	0,422 g
52 „	0,201 „	180 „	0,518 „
72 „	0,310 „	288 „	0,747 „
99 „	0,359 „		

1) Mit Berücksichtigung der Correctur.

Die Zahlen sprechen dafür, dass die Säurebildung von Seiten der alten Cultur etwas langsamer von Statten geht.

Versuch über den Einfluss der Temperatur auf die Säurebildung.

Dauer des Versuchs	Temperatur	Ca O gefunden
168 Stunden	10—11°	(keine Entwicklung)
	12—18°	0,329 g
	25—26°	0,515 „
	36—37°	0,644 „
	45—50°	(keine Entwicklung)

Versuch über den Einfluss discontinuirlicher Temperatur auf die Säurebildung.

Dauer des Versuchs	Temperatur	Ca O gefunden
288 Stunden	36 bis 37°	0,747
	Abwechselnd 24 Std. bei 36 bis 37° und 24 Std. bei Laboratoriumstemperatur	0,486

Versuch über den Einfluss der Zusammensetzung der Nährlösung auf die Säurebildung.

a. Wechselnder Zuckergehalt.

Dauer des Versuchs	Zuckergehalt	Zucker zersetzt	Ca O gefunden	Verhältnis des zersetzten Zuckers zum gefundenen Ca O
168 Stunden	5 g	1,70 g	0,475	1 : 0,28
	10 „	2,23 „	0,611	1 : 0,27
	15 „	2,84 „	0,772	1 : 0,27

b. Wechselnder Peptongehalt.

Dauer des Versuchs	Peptongehalt	Zucker zersetzt	Ca O gefunden	Verhältnis des zersetzten Zuckers zum gefundenen Ca O
240 Stunden	1 g	2,57	0,665	1 : 0,26
	3 „	1,88	0,617	1 : 0,33

Es ergibt sich aus diesen Versuchen, dass die Bruttemperatur die der Säurebildung günstigste ist, ferner, dass Zuckerzersetzung und Säurebildung mit steigendem Zuckergehalt der Nährlösung zunehmen, mit steigendem Peptongehalt abnehmen.

Dieser letztere Befund, welcher mit einer Beobachtung von Péré[1]), der seine Experimente an Bact. coli anstellte, übereinstimmt, erklärt sich vielleicht so, dass die Bacterien bei reichlichem Eiweissgehalt der Nahrung zunächst dieses angreifen. Das Verhältnis der Zuckerzersetzung zur CaO-Menge, welches in allen meinen Versuchen mit 2 g Pepton (1 %) zwischen 1 : 0,2 und 1 : 0,3 schwankt, erreicht in dem Versuch mit 3 g Pepton (1,5 %) den Werth 1 : 0,33. Das könnte vielleicht dafür sprechen, dass der Vibrio Koch auch aus dem Pepton Säuren bilden kann; doch ist das vorliegende Material zu gering, als dass man schon jetzt derartige Schlüsse zu ziehen berechtigt wäre.

Versuch über den Einfluss des Schüttelns auf die Säurebildung.

Endlich habe ich noch einen Versuch angestellt, welcher über den Einfluss des Schüttelns auf die Säurebildung Aufschluss geben sollte. Es zeigte sich, wie zu erwarten war, dass derselbe ein ziemlich bedeutender ist.

Kölbchen a wurde jeden Tag geschüttelt, Kölbchen b jeden zweiten Tag.

Nach zehn Tagen wurde die Kalkbestimmung ausgeführt und in Kölbchen a 0,677 g CaO, in Kölbchen b 0,548 g CaO gefunden.

4. Alkoholische und aldehydische Producte, quantitative Bestimmung des Alkohol.

Ueber das Vorkommen von Alkohol in Culturen des Vibrio Koch hat Kuprianow keine Untersuchungen angestellt; ich selbst habe angegeben, dass die Vibrionen Dunbar, Wernicke 1, 2 und 3, der aus dem Fall in Wittenberg isolirte Keim, sowie die Vibrionen der Calcutta- und Massauah-Cholera mehr oder weniger Alkohol und zum Theil auch Spuren von Aldehyd bilden. Da Genaueres über die bei neutraler Reaction flüchtigen Producte weder für die erwähnten Keime, noch für den echten Vibrio Koch

1) Ann. Inst. Past., T. 7, p. 737.

bekannt ist, habe ich Untersuchungen in dieser Richtung angestellt. Es ergab sich, dass jede Zuckerpeptoncultur Alkohol enthielt. Destillirt man aus einer Dreiliter-Cultur nach Entfernung des Calciumcarbonats durch Filtriren 300 ccm ab, rectificirt das Destillat noch einige Male, so lässt sich in der Flüssigkeit Alkohol mit verschiedenen Proben sicher nachweisen: die Lieben'sche Jodoformreaction fällt positiv aus, beim Erhitzen mit Kaliumbichromat und verdünnter Schwefelsäure wird Aldehyd und beim Erhitzen mit Natriumacetat und conc. Schwefelsäure Essigäther gebildet. Durch nochmalige Destillation der Flüssigkeit in Gegenwart eines wasserentziehenden Mittels erhält man ein Product, welches entzündbar ist und mit bläulicher Flamme brennt. Um auch auf Aldehyd und andere flüchtige Körper prüfen zu können, reichte die Menge, welche man aus einer Cultur erhielt, nicht aus. Ich habe deswegen die Destillate von sieben Dreiliter-Culturen (Alter 1 bis 6 Wochen) vereinigt, rectificirt und schliesslich im Apparat von Le Bel-Henninger der fractionirten Destillation unterworfen. Bei 26 bis 28° geht eine Flüssigkeit über, welche sich sehr leicht verflüchtigt, stark nach Aldehyd riecht und die Silberspiegelreaction nach Tollens, sowie die Metaphenylendiaminreaction gibt. Die bei 58 bis 67° destillirende Fraction färbt sich auf Zusatz von Nitroprussidnatrium und Natronlauge roth, beim Uebersättigen mit Essigsäure violett, zeigt also die Acetonreaction. Es sind mithin ausser Alkohol auch Aldehyd und Aceton als Producte der Lebensthätigkeit des Vibrio Koch nachgewiesen.

Für die quantitative Bestimmung destillirte ich aus Dreiliter-Culturen je 1 l ab, rectificirte, ermittelte das specifische Gewicht mit Hilfe der Westphal'schen Waage und berechnete daraus den Alkoholgehalt.

Dauer des Versuchs	Menge des Destillats	Spec. Gewicht des Destillats bei 15°	Menge des gebildeten Alkohols
168 Stunden	310 ccm	0,9998	0,341 g
504 „	250 „	0,9977	3,075 „
888 „	245 „	0,9986	1,813 „

Man sieht aus der Tabelle, dass der Alkohol bis zu einer bestimmten Zeit zu-, dann wieder abnimmt.

Indessen können die gefundenen Werthe auf absolute Genauigkeit keinen Anspruch machen, denn einmal enthielten die Flüssigkeiten, deren specifisches Gewicht bestimmt wurde, ausser Alkohol noch andere flüchtige Substanzen, welche auch durch wiederholte Rectifikation nicht ganz zu entfernen waren, und zweitens waren sie nicht ganz klar, sondern leicht getrübt. Dazu kommt, dass sich während des langen Stehens der Kolben im warmen Wasserbad ein Theil des gebildeten Alkohols verflüchtigt. Um mich über die Grösse des auf diese Weise entstehenden Verlustes zu orientiren, habe ich einige Versuche mit je 3 l Wasser, denen verschiedene Mengen Alkohol zugefügt waren, angestellt.

Dauer des Versuches	Menge des Alkohols		Verlust an Alkohol	
	zugesetzt	wiedergefunden	in g	in %
168 Stunden	3,99 g	2,55 g	1,44	36,0
336 „	7,94 „	5,96 „	1,99	25,0

Der Verlust durch Verdunstung ist ein sehr erheblicher. Es erklärt sich auf diese Weise ohne weiteres die geringe Menge Alkohol, welche in dem Versuch von 888 Stunden Dauer gefunden wurde. Die Zersetzungsvorgänge waren in dieser alten Cultur offenbar abgeschlossen oder doch auf ein Minimum reducirt. Neuer Alkohol wurde also nicht mehr gebildet, der vorher entstandene hatte sich allmählich zum Theil verflüchtigt.

5. Gasförmige Producte, speciell Kohlensäure.

Folgender Versuch sollte mir Aufschluss darüber geben, ob sich unter den Zersetzungsproducten des Vibrio Koch in zuckerhaltigen Nährlösungen freie Kohlensäure befände.

Der für diesen Zweck dienende Culturkolben von etwa 250 ccm Inhalt war mit einem doppelt durchbohrten Kautschukstopfen verschlossen.

In den Bohrungen befanden sich Glasröhren, von denen die eine bis auf den Boden des Kolbens reichte und mit einer

Kalilauge enthaltenden Waschflasche verbunden war. Die andere schnitt unterhalb des Stopfens ab und war an ein Chlorcalciumröhrchen angefügt, welches andererseits mit einem Liebig'schen Kaliapparat in Verbindung stand. An diesen letzteren schloss sich ein Röhrchen mit Aetzkali und an dieses schliesslich ein Chlorcalciumröhrchen an. Der ganze so zusammengesetzte Apparat kam nach erfolgter Infection der Culturflüssigkeit, welche 200 ccm betrug und die bekannte Zusammensetzung hatte, in den Brutschrank. Jeden Tag wurde einmal an dem Chlorcalciumröhrchen gesaugt, um die gebildete Kohlensäure aus der Culturflüssigkeit zu entfernen und in den Kaliapparat überzuführen. Nach acht Tagen unterbrach ich den Versuch. Kaliapparat und Aetzkaliröhrchen, deren Gewicht vor Beginn des Versuches festgestellt war, wurden wieder gewogen. Um die noch in der Culturflüssigkeit gelöste Kohlensäuremenge zu bestimmen, wurde der Kolben, an den die Waschflasche mit Kalilauge noch angefügt war, mit einer Pettenkofer'schen Barytröhre, welche titrirtes Barytwasser enthielt, verbunden. Zwischen Kolben und Barytröhre schaltete ich einen leeren Erlenmeyer'schen Kolben ein, die Barytröhre stand auf der anderen Seite in Verbindung mit einer Wasserstrahlpumpe. Nunmehr wurde die Culturflüssigkeit erhitzt, während gleichzeitig ein langsamer Luftstrom, der während des Durchtretens durch die Waschflasche von der Kohlensäure befreit wurde, durch die Flüssigkeit hindurchging.

Eine nach Beendigung des Erhitzens ausgeführte Titrirung gab Aufschluss über die Quantität der Kohlensäure, welche die Flüssigkeit noch enthalten hatte.

Ein unter denselben Verhältnissen ausgeführter Controlversuch ergab, dass aus der nicht inficirten Nährlösung keine nennenswerthe Menge Kohlensäure erhalten wurde.

Versuchsdauer	Menge des zersetzten Zuckers	Menge des erhalt. Calciumoxyd	Menge der gebildeten CO_2
192 Stunden	2,12 g	0,538 g	0,435 g

0,538 g CaO entsprechen 0,422 g CO_2, 0,422 g CO_2 müssen also, als aus dem zugefügten kohlensauren Kalk stammend, von der gefundenen Kohlensäuremenge in Abzug gebracht werden. Es bleiben als Rest 0,013 g CO_2, eine Quantität, welche fast als innerhalb der Fehlergrenze liegend angesehen werden kann. Bei der Zersetzung zuckerhaltigen Nährmaterials von Seiten des Vibrio Koch entsteht also keine, oder nur ganz wenig Kohlensäure.

6. Untersuchung der Zersetzungsproducte, welche auftreten, wenn der Traubenzucker in der Nährlösung durch andere Kohlehydrate ersetzt ist.

In den folgenden Versuchen wurde der Traubenzucker aus der Nährlösung fortgelassen und durch anderen Zucker ersetzt, und zwar verwandte ich Rohrzucker, Maltose, Milchzucker und Amylum. Das Volumen der Nährlösung betrug 1500 ccm.

Cultur mit Rohrzucker. Wachsthum gut; doch keine Häutchenbildung an der Oberfläche. Die Cultur bleibt 21 Tage im Wasserbad und wird alsdann gleich untersucht. Die Titration ergab 51,3 g Zucker. Die Menge des Zuckers war am Anfang 72,4 g; es sind also 21,1 g zersetzt worden.

Alkohol wurde nachgewiesen.

Bei Behandlung der Flüssigkeit mit Oxalsäure macht sich eine schwachrothe Farbe bemerkbar (Indolreaction). Zur Neutralisirung der flüchtigen Säuren (das Destillat betrug 1 l) brauchte man 102,4 ccm $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge.

Die Menge des Zinksalzes beträgt im Ganzen 4,77 g.

Die Lösung des Zinksalzes dreht rechts. 0,725 g Substanz bewirken eine Ablenkung von 0,84°, also $(\alpha) D = + 7{,}53$.

0,349 g Substanz verlieren bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,046 g Wasser. Das entspricht 13,18% Krystallwasser.

0,428 g Substanz liefern beim Glühen 0,122 g ZnO. Das entspricht 28,50% ZnO.

Cultur mit Maltose. Wachsthum ziemlich gut; keine Häutchenbildung an der Oberfläche. Die Cultur bleibt 21 Tage im Wasserbad und wird alsdann gleich untersucht. Die Titration ergibt im Ganzen 23,6 g Zucker. Zu Anfang waren 34,8 g Zucker vorhanden; es sind also demgemäss 11,2 g zersetzt worden.

Alkohol wurde nachgewiesen.

Beim Ansäuern mit Oxalsäure erhält man eine im Verhältnis zur vorigen bedeutend stärkere Indolreaction. Zum Neutralisiren der flüchtigen Säuren (bei 1 l Destillat) sind 90,7 ccm $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge erforderlich.

Die Menge des Zinksalzes beträgt 0,487 g.

Die Lösung des Salzes dreht rechts.

0,266 g Substanz verlieren bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,033 g H_2O. Das entspricht 12,40% Krystallwasser.

Dieselbe Quantität liefert beim Glühen 0,076 g ZnO. Das entspricht 28,60% ZnO.

Cultur mit Milchzucker. Wachsthum ziemlich gut. Die Cultur bleibt 22 Tage im Brütschrank und wird alsdann gleich untersucht. Die Titration ergab 62,4 g Zucker. Zu Anfang betrug die Quantität 69,8 g; es sind also im Ganzen 7,4 g zersetzt worden.

Von Alkohol oder richtiger Jodoform bildender Substanz wurden nur Spuren nachgewiesen.

Bei Ansäuern mit Oxalsäure findet eine starke Cholerarothreaction statt. Zur Neutralisirung der flüchtigen Säuren brauchte man 71,1 ccm $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge.

Die Operationen, welche man vornahm, um eine Krystallisation von milchsaurem Zink zu erzielen, verliefen resultatlos.

Die mit Blutkohle entfärbte Lösung erwies sich optisch inactiv.

Cultur mit Amylum. Wachsthum kümmerlich; doch kann man am Ende der Versuche Vibrionen in Reincultur erhalten. Die Cultur bleibt im Brütschrank 23 Tage. Das Amylum liegt noch zum grössten Theil ungelöst am Boden des Gefässes.

Eine Bestimmung der zersetzten Menge wird nicht ausgeführt.

Beim Ansäuern mit Oxalsäure findet keine Indolreation statt. Nur geringe Mengen flüchtiger Säuren gehen ins Destillat über. 7 ccm $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge genügen, um vollständige Neutralisation zu erhalten. (Das Destillat beträgt 710 ccm.)

Es ist nicht gelungen, Milchsäure als Zinksalz zu bekommen.

Zum Vergleich ist in die folgende Tabelle einer der bereits erwähnten Traubenzuckerversuche mit eingestellt. Da zu diesem Versuch 3 l Culturflüssigkeit dienten, sind die Werthe durch 2 dividirt; der Werth für flüchtige Säure musste weggelassen werden, da er sich nicht auf 1500 ccm reduciren liess.

Zuckerart	Dauer des Versuchs	Menge des zersetzten Zuckers	Menge des gebildeten milchs. Zink	Menge der gebild. flücht. Säure als H_2SO_4	Indolreact.
Traubenzuck.	504 Std.	27,25 g	6,54 g	—	0
Rohrzucker	504 „	21,1 „	4,77 „	0,5	schwach
Maltose	504 „	11,2 „	0,487 „	0,44	stärker
Milchzucker	528 „	7,4 „	0	0,35	stark
Amylum	552 „	—	0	—	0

Diese Resultate sind in mehrfacher Hinsicht von grossem Interesse. Sie zeigen, dass Traubenzucker am reichlichsten zersetzt wird und die grösste Menge Milchsäure liefert; es folgt Rohrzucker, dann Maltose und schliesslich Milchzucker, welcher wohl noch in geringer Menge zerstört wird, aber keine nachweisbare Milchsäure mehr entstehen lässt. Der Amylumversuch muss in dieser Betrachtung fortgelassen werden, da die Entwickelung der Vibrionen eine minimale war. Die Qualität der Milchsäure ist in allen Fällen dieselbe, nämlich Linksmilchsäure. Die flüchtige Säure tritt im Rohr-, Malz- und Milchzuckerversuch in annähernd gleicher Menge auf; sie scheint also in diesen Fällen nicht allein von der Zersetzung des Zuckers abzuhängen. Letztere steht in bestimmter Beziehung zu der Indolbildung; sie ist um so stärker, je weniger Zucker angegriffen wird. Bei reichlicher Zuckerzersetzung (Traubenzucker-Versuch) fehlt sie ganz. In Reagenzglaspepton-Milchzuckerculturen liess sich schon nach 7 Tagen reichlich Indol nachweisen. Es ist das eine weitere Bestätigung der zuerst von Hirschler[1]) im Laboratorium von Hoppe-Seyler gemachten Beobachtung, dass Kohlehydrate fäulnishemmend wirken.

Auch die Bildung der Gesammtsäure ist in Milchzucker-Peptonlösung eine viel geringere als in Traubenzucker-Peptonlösung. In 200 ccm der ersteren war in 7 Tagen 0,201 g CaO in Lösung gegangen, in 200 ccm der letzteren innerhalb derselben Zeit 0,673 g.

Dieses Ergebnis steht im besten Einklang mit der Angabe von Sclavo[2]); dieser Autor züchtete Choleravibrionen, welche der Pariser-, der Cochinchina-, Massaua- und Ghinda-Epidemie entstammten, einerseits in Milchzucker-, andererseits in Traubenzucker-Peptonlösungen, und fand übereinstimmend, dass die saure

1) Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. X, S. 306.

2) Di alcune differenze esistenti fra gli spirilli del colera etc. Ministero dell' Interno 1892.

Reaction in den ersteren Lösungen viel später nachzuweisen war als in der letzteren.

In Bezug auf das Verhalten des Vibrio Koch gegen Milch sind die Angaben in der Literatur wechselnd. Koch[1]) und Hüppe[2]) finden, dass die Milch ein guter Nährboden sei, auf dem es zu einer reichlichen Entwickelung der Vibrionen käme, dass aber eine Gerinnung nicht einträte; Netter[3]) u. A., in jüngster Zeit Haan und Huysse[4]) beobachteten regelmässig eine Coagulation.[5])

Dass die die Caseïnabscheidung bewirkende Säure Milchsäure sei, ist bis jetzt nicht bewiesen. Die Versuche von Haan und Huysse in dieser Richtung sind als vollständig verfehlte und unbrauchbare zu bezeichnen; auch die Angabe über die Quantität der gebildeten Säure muss Misstrauen erwecken; sie fanden, dass 10 ccm der coagulirten und filtrirten Milch im Durchschnitt 4,3 ccm Normal-Sodalösung zur Neutralisirung verbrauchten; eine solche Acidität entspricht einer 2,1% Schwefelsäure. Es ist kaum anzunehmen, dass die Choleravibrionen in einem Medium von diesem Säuregrad zu leben vermögen.

7. Untersuchung der Zersetzungsproducte, welche in zuckerhaltigen, aber eiweissfreien Nährlösungen auftreten.

Die Nährlösung, welche mir in den beschriebenen Versuchen diente, war zwar eine relativ einfache; sie enthielt aber Pepton, einen Körper von durchaus dunkler Zusammensetzung. Eine genauere Einsicht in die Beziehungen der Zerfallsproducte zu den Nährstoffen war aber nur zu erwarten, wenn die letzteren in Bezug auf ihre Constitution vollkommen bekannt sind.

1) Bericht über die Thätigkeit der zur Erforschung der Cholera im Jahre 1883 nach Aegypten und Indien entsendeten Commission. S. 163.

2) Berl. klin. Wochenschr. 1887, Nr. 9, S. 140.

3) La semaine médic., 1892, Nr. 37, p. 294.

4) Centralbl. f. Bact. u. Parask., Bd. XV, S. 268.

5) Eine Erklärung dieser widersprechenden Angaben ergibt sich vielleicht aus den Beobachtungen von Hesse, Zeitschr. f. Hygiene u. Infectionskr., Bd. XVII, S. 238.

Ich begrüsste es deshalb mit grosser Freude, als Uschinsky[1]) einen Nährboden angab, auf welchem die Choleravibrionen gut gedeihen, welcher sehr einfach zusammengesetzt ist und nur Stoffe enthält, deren chemische Natur vollkommen klar liegt. Leider fehlte mir die Zeit, um diese Lösung für meine Zwecke nach allen Seiten hin ausnutzen zu können; ich habe nur die beiden folgenden Versuche angestellt.

1. Versuch.

Die Zusammensetzung der Nährlösung, deren Volumen 1500 ccm betrug, entsprach den Angaben von Uschinsky; nur das milchsaure Ammoniak wurde natürlich weggelassen, von Zucker 73,8 und von Asparaginsäure 3 g zugesetzt.

Wachsthum anfangs sehr kümmerlich; erst nach 2 Tagen macht sich eine üppige Entwickelung bemerkbar, gleichzeitig beginnt die Gasbildung. Die Cultur wird nach 22 Tagen untersucht. Die Titration ergibt im Ganzen 40,68 g Glukose. Es sind also 33,12 zersetzt worden.

Alkohol wurde nachgewiesen.

Zur Neutralisirung der flüchtigen Säuren (1 l Destillat) waren 17,8 ccm Normalnatronlauge erforderlich.

Die Quantität des Zinksalzes betrug 8,74 g, abgelesene Drehung 0.72°, Substanz 0,622 g; also $(\alpha)D = + 7{,}52$.

0,538 g Substanz verlieren bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,068 g Wasser. Das entspricht 12,65% Krystallwasser.

0,397 g Substanz liefern beim Glühen 0,114 g ZnO. Das entspricht 28,71% ZnO.

2. Versuch.

Die Zusammensetzung der Lösung war in diesem Fall folgende:

Wasser	800	g
Glycerin	15	„
NaCl	2,5	„
Na_2CO_3	2,5	„
K_2HPO_4	1,0	„
Asparaginsäure	1,5	„
Traubenzucker	50	„
Calciumcarbonat	20	„

Wachsthum anfangs sehr kümmerlich; die Lösung zeigt nach 18 Stunden kaum eine Trübung. Nach 2 Tagen geht die Entwickelung sehr stark von statten, und zahlreiche Gasbläschen steigen an die Oberfläche. Diese so bedeutende Gasbildung dauert beinahe eine Woche. Die Cultur wird nach 19 Tagen untersucht. Die Titration ergibt im Ganzen 35,37 g Zucker. Es sind also 14,63 g zersetzt worden.

1) Centralbl. f. Bact. u. Parask., Bd. XIV, S. 316.

Alkoholdestillation musste unterbleiben.

Zur Neutralisirung der flüchtigen Säuren (1 l Destillat) waren 9,7 ccm Normalnatronlauge erforderlich.

Die Quantität des Zinksalzes betrug 4,25 g, abgelesene Drehung 1,10°, Substanz 0,955 g; also $(\alpha)D = + 7{,}48$.

0,474 g Substanz verlieren bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet 0,059 g Wasser. Das entspricht 12,44% Krystallwasser.

Dieselbe Quantität liefert beim Glühen 0,136 g ZnO. Das entspricht 28,69% ZnO.

Folgende Tabelle zeigt die erhaltenen Resultate übersichtlich.

	Dauer des Versuchs	Menge d. zersetzt. Zuckers	Menge d. gebild. milchs. Zink	Menge d. gebild. flücht. S. (H_2SO_4)	Verhältn. d. zersetzten Zuckers zum milchs. Zink	Verhältn. d. zersetzten Zuckers zur flücht. S.
1. Vers.	528 Std.	33,12 g	8,74 g	0,87 g	1 : 0,26	1 : 0,026
2. „	456 „	14,63 „	4,25 „	0,47 „	1 : 0,29	1 : 0,032

Unter einander lassen sich beide Versuche nicht vergleichen, da weder Zusammensetzung noch Versuchsdauer noch Menge der Culturflüssigkeit übereinstimmen. Die Energie der Zersetzung ist ungefähr die gleiche, wie sie bei Anwesenheit von Pepton beobachtet wurde; auch die Verhältnisse der Menge des zersetzten Zuckers einerseits zur Menge der gebildeten Milchsäure, andererseits zur Menge der gebildeten flüchtigen Säure stimmen annähernd mit den bei den früheren Versuchen gemachten Beobachtungen überein. Die Milchsäure ist auch hier wieder die links drehende Modification.

8. Untersuchung über die Zersetzungsproducte, welche andere Vibrionen in zuckerhaltigen Nährlösungen bilden.

Nach Kuprianow's und meinen Untersuchungen bilden die Vibrionen Koch, Finkler-Prior, Dunbar, Massaua, Metschnikoff, Wernicke 1 Links-Milchsäure. In der Hoffnung, dass sie sich vielleicht in der Energie der Zersetzung oder in Bezug auf die Quantität der von ihnen gebildeten Säure unterscheiden möchten, habe ich eine Reihe vergleichender Untersuchungen mit den genannten Mikroorganismen angestellt. Die Nährlösung betrug

250 ccm, sie enthielt 10 g Traubenzucker, 2 g Pepton, 5 g Calciumcarbonat; die Versuchsdauer währte 8 Tage, zur Gewinnung der flüchtigen Säure wurden 550 ccm abdestillirt.

Vibrionen	Menge d. zersetzt. Zuckers	Menge des erhaltenen CaO	Menge der flücht. Säure (H_2SO_4)	Verhältnis d. zersetzten Zuckers z. CaO	Verhältnis d. zers. Z. z. flüchtigen Säure
Koch . . .	1,60	0,516	0,086	1 : 0,32	1 : 0,054
Dunbar . .	2,32	0,549	0,086	1 : 0,24	1 : 0,037
Metschnikoff	2,43	0,562	0,09	1 : 0,23	1 : 0,037
Wernicke 1	1,81	0,403	0,095	1 : 0,22	1 : 0,052
Massaua .	1,99	0,578	0,068	1 : 0,29	1 : 0,034
Finkler-Prior	2,11	0,446	0,11	1 : 0,21	1 : 0,052

Es ergibt sich aus dieser Zusammenstellung, dass die Zersetzung in allen Fällen in ziemlich gleicher Weise verläuft. Kleine Unterschiede treten allerdings hervor; ob diese constante oder zufällige sind, ob sie etwa für die Differentialdiagnose zu verwerthen sind oder nicht, kann nur durch eine grössere Reihe von Versuchen festgestellt werden.

Untersuchungen über intraperitoneale Cholerainfection und Choleraimmunität.

Von

Stabsarzt Dr. **Bonhoff.**

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin.)

(Mit 2 Tafeln.)

Nach den ausserordentlichen und hervorragenden Erfolgen, welche die Versuche Behring's über die Immunität gegen Diphtherie und Tetanus gezeitigt hatten, war es nur natürlich, dass die Mehrzahl der experimentell arbeitenden Bacteriologen sich mit der Frage nach gleichen Ergebnissen bei anderen Infectionskrankheiten beschäftigte, und dass vor Allem der damals sich Europa nahende Schrecken, die asiatische Cholera, vielen Forschern ein willkommener Gegenstand zu Untersuchungen wurde, die man in derselben Richtung wie die bedeutungsvollen Arbeiten Behring's, anstellte. Seitdem sind Jahre vergangen, und die Ergebnisse der meisten oder aller Autoren sind veröffentlicht und zeigen mit wenigen Ausnahmen, dass die Hoffnungen, welche man an jene Arbeiten knüpfte, sich nicht erfüllt haben. Im Folgenden sollen die Untersuchungen mitgetheilt werden, welche im hygienischen Institut Berlin in der Frage nach einer künstlichen Erzeugung eines Immunität gegen Cholera verleihenden Körpers, in der Zeit vom Sommer 1892 bis Frühjahr 1894, angestellt worden sind. Wie gleich bemerkt sein mag, decken sich die Ergebnisse völlig mit den bisher von

anderer Seite mitgetheilten, soweit sie die obige Frage verneinen. Als ein weiteres Glied in der Kette des Beweises dafür, dass bisher eine künstliche Cholera-Immunität nicht erreicht ist, mögen dieselben auch heute noch nicht ohne Interesse sein.

Den eigentlichen Versuchen zur Erzeugung einer künstlichen Cholera-Immunität wird die Beschreibung der angewandten Methoden und einer Versuchsreihe über die Veränderung der Virulenz von Cholerabacterien bei wiederholtem Durchgehen des Thierkörpers ohne Züchtung auf todtem Material vorausgehen. Beide Versuchsreihen stehen insofern im Zusammenhang, als den Thieren der letztgenannten Reihe sehr häufig das Material zur Impfung oder Vorbehandlung der zu immunisirenden Thiere entnommen wurde. Am Schlusse findet sich eine Versuchsreihe, die in jeder Beziehung als Bestätigung der Klein-Sobernheim'schen Experimente anzusehen ist.

Die zur Anwendung gekommenen Nährböden, auf denen die Züchtung der Reinculturen vorgenommen wurde, waren immer in derselben Weise von derselben Person hergestellt, bei Controlversuchen wurden immer Nährböden derselben Provenienz verwendet. Unter Bouillon ist zu verstehen die gewöhnliche, leicht alkalische Fleischwasser-Pepton-Kochsalzlösung (letztere im Verhältnis von 1% bezw. 0,5%), hergestellt aus fettfreiem, klein gehacktem Rindfleisch, 500 g, und 1000 g Wasser; dreimal je ½ Stunde im strömenden Dampf sterilisirt. Unter Gelatine der aus dieser Lösung durch Zusatz von 10% Gelatine gewonnene, durch höheren Alkalizusatz (Sodalösung gesättigt) ebenfalls schwach alkalisch gemachte, ebenso dreimal sterilisirte feste Nährboden. Unter Agar das aus derselben Bouillon durch Zusatz von 1½% Agar-Agar, Alkalizusatz und ebenso vorgenommene Sterilisation erhaltene, in schräger Lage des Röhrchens erstarrte Nährsubstrat. Wo andere Mittel zur Züchtung verwendet sind, wird dies immer ausdrücklich angegeben.

Die angewendeten Culturen und sonstiges Impfmaterial (Körperflüssigkeiten) sind auf Reinheit in jedem Falle geprüft worden, meist mit Hilfe des Plattenverfahrens, zuweilen allerdings, wenn

die Zeit knapp war, nur im mikroskopischen Präparat. Im letzteren Falle wurde aber stets zur Controle ein Agar- oder Bouillonröhrchen, selten auch ein Gelatineröhrchen geimpft (erstere in den Brütschrank bei 37° C. gestellt) und am nächsten Tage mikroskopisch untersucht. Es ist so gelungen, eine Reihe von Thieren auszuschliessen, die im Folgenden nicht erwähnt sind, bei denen eine Impfung mit Reinculturen nicht stattgefunden hatte.

Die Choleracultur, welche in den nachfolgenden Versuchen mit wenigen angegebenen Ausnahmen ausschliesslich zur Anwendung kam, stammt von dem zweiten Fall, der im Herbst 1892 von Hamburg nach Berlin eingeschleppt wurde, der Frau Frohnert, der ersten Kranken, welche damals im Krankenhause Moabit an asiatischer Cholera starb. Die Cultur wurde gewonnen aus einer der Dejectionen des dritten Krankheitstages. Auf den Gelatineplatten, die 24 Stunden bei 22° C. gestanden hatten, fanden sich neben einer sehr grossen Anzahl typischer Choleracolonien einige wenige Colonien, die dunkelgelb aussahen, wetzsteinförmige Gestalt aufwiesen und im mikroskopischen Präparat Stäbchen zeigten, die die grösste Aehnlichkeit mit Bacterium coli commune hatten, soweit dieselben untersucht wurden. Anders geartete Colonien fanden sich zunächst auf den Platten nicht, später gesellten sich einige oberflächlich gelegene Colonien einiger Sarcinearten, verflüssigender, farbstoffbildender Diplococcen und Schimmelpilze hinzu.

Die Choleracolonien zeigten im Alter von 24 Stunden alle typischen Merkmale, unregelmässige Begrenzung, feinen, hellen Saum mit rosa Färbung, beginnende Glasbröckchenbildung im Inneren, beim Niederschrauben des Tubus einen starken, hellen Schein an der Stelle der Colonie. Auch im gefärbten, mikroskopischen Präparat wichen die Mikroorganismen dieser Colonien in nichts von der oft wiederholten Beschreibung der Koch'schen Commabacillen ab. Die deutlich gekrümmten Stäbchen lagen meist einzeln, selten zu zweien, wobei die typische S-Form in ausgezeichneter Weise zur Anschauung kam; längere Verbände wurden bei der Untersuchung dieser jungen Colonien nicht beobachtet. Dagegen zeigte sich bei der Untersuchung im hängen-

den Tropfen, dass die Bacterien keine Spur von Eigenbewegung hatten, dass sie alle ohne Ausnahme vollständig ruhig an ihrem Platze lagen, obgleich reichlich Raum für Herumschwirren vorhanden gewesen wäre. Auch als der Tropfen ½ Stunde im Brütschrank bei 37° gehalten war und dann von Neuem untersucht wurde, zeigte sich nur eben eine Andeutung von Eigenbewegung bei einigen Individuen, eine sehr grosse Zahl lag auch jetzt ohne Ortsveränderung da, von einem tanzenden Mückenschwarm war jedenfalls nichts zu sehen. Diese geringe Eigenbewegung hielt etwa eine Viertelstunde an, dann war sie wieder völlig erloschen. Diese Eigenthümlichkeit hat die »Cultur Frohnert« lange Zeit bewahrt, noch heute müssen besondere Vorsichtsmaassregeln angewendet werden, wenn an Abkömmlingen derselben Eigenbewegung demonstrirt werden soll. Wie die eigenartige Trägheit dieser Cholerabacterien zu erklären ist, darüber vermag ich nichts zu sagen. Mit der Löffler'schen Methode der Geisselfärbung gelang es in allen Fällen leicht, die typische Geissel an einem Ende des Vibrio zur Anschauung zu bringen.

Nach 48 Stunden Wachsthum hatten die Colonien in der Gelatine zum Theil das typische Aussehen 48stündiger Choleracolonien, wie es oft genug abgebildet ist und wie es sich auch auf Gelatineplatten fand, die zum Vergleich zur selben Zeit mit alter, lange fortgezüchteter Laboratoriumscholera, wahrscheinlich aus Toulon vom Jahre 1885 herstammend, angefertigt waren. Zum anderen Theil aber stellten sich die Colonien, und zwar nicht weniger zahlreiche, anders dar. Der Nährboden war mehr in die Breite verflüssigt, als das für gewöhnlich bei so jungen Colonien der Fall zu sein pflegt; die Platten sahen aus, als wenn zweierlei verflüssigende Bacterienarten darauf zur Entwickelung gekommen wären, etwa so, wie es als typisch für den Vibrio Metschnikoff von R. Pfeiffer[1]) beschrieben ist: kleine, in die Tiefe dringende und breitere, grössere Colonien, die jedoch, wie sich mittels des Plattenverfahrens leicht erweisen liess, beides

1) R. Pfeiffer, Ueber den Vibrio Metschnikowi und sein Verhältnis zur Cholera asiat. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. VII, 1889, S. 357.

Choleracolonien waren; jede einzelne der verschiedenartigen Colonien brachte wieder beide Arten aus Kommabacillen bestehender Colonien, deren Bacterien sich auf allen künstlichen Nährböden und im Thierversuch als typisch erwiesen, hervor. Es ist also daraus zu schliessen, dass dieser — bisher als solcher geltende — Unterschied zwischen Vibrio Metschnikoff und Vibrio Cholerae asiaticae nicht immer vorhanden ist, also auch nicht gut als differenzielles Merkmal verwerthet werden kann.

Auch im Gelatinestich zeigten die ersten Generationen der Cultur Frohnert eine weit kräftigere Einwirkung auf den festen Nährboden, als man das gewöhnlich zu sehen bekommt. Von einem ausgezogenen Capillarröhrchen war niemals die Rede, die Verflüssigung ging auch hier alsbald in die Breite, so dass selbst die gewundenen Knäuel in der Mitte des Stiches sich nicht herausbilden konnten. Sehr oft hatte sich nach 3 bis 4 Tagen auf der Oberfläche der verflüssigten Gelatine bei Zimmertemperatur das bekannte dünne, perlgraue, leicht zerreissliche Häutchen gebildet, welches die Bouillonculturen bei Brüttemperatur so schnell entwickeln. Dagegen fand sich dieses Häutchen nicht bei den ersten beiden Generationen von Bouillonröhrchen, welche direkt von der Gelatineplatte, bezw. dem ersten Bouillonröhrchen geimpft waren, obgleich beide im Brütschrank bei richtiger Temperatur gehalten waren. Spätere Generationen, in dieselbe Bouillon übertragen, also in Röhrchen, die von demselben Liter des Nährbodens stammten, wie die ersten, haben dann stets in besonders schöner Weise die Häutchenbildung beobachten lassen.

Endlich möchte ich noch erwähnen, dass es niemals gelungen ist, diese Choleracultur auf nicht künstlich in ihrer Reaction veränderten Kartoffelstückchen zur Entwickelung zu bringen; auch nicht bei Brüttemperatur.

Diese geringen Abweichungen sollen nicht etwa irgend Jemandem Veranlassung geben, an der Constanz der biologischen Eigenschaften der Cholerabacterien zu zweifeln; es sei ausdrücklich bemerkt, dass in manchen anderen Fällen von Cholera asiatica Reinculturen gewonnen wurden, die in gar keinem Punkte von der ersten Beschreibung vom Kommabacillus, die wir

besitzen, abweichen; in wieder anderen auch Abweichungen sich nachweisen liessen, die nach ganz anderen Richtungen gehen, als die oben beschriebenen. Es wird natürlich keinem naturwissenschaftlich Denkenden einfallen, daraus den Schluss zu ziehen, dass es sich bei den Wachsthumseigenthümlichkeiten der Koch-schen Vibrionen um Zufälligkeiten handele, dass dieselben also zur Diagnosenstellung nicht zu verwerthen seien. Solche geringen Unterschiede werden sich immer finden, aber selbst schwerer wiegende Differenzen, wie sie zum Theil schon beschrieben sind, die Verschiedenheiten der Virulenz, der Gestalt, der chemischen Umsetzungen, sofern sie sich jede für sich allein finden, während alle übrigen Eigenschaften in typischer Weise vorhanden sind, werden uns nicht hindern, den in nur einem solchen Punkte abnorm sich verhaltenden Organismus als Cholerabacillus zu klassificiren.

Abgesehen von den oben mitgetheilten Differenzen geringer Art verhielt sich die Cultur Frohnert in jeder Beziehung gleich der zur Vergleichung herangezogenen Choleracultur, was das Wachsthum auf den gebräuchlicheren Nährboden, ferner auf Milch, verdünnter Bouillon und Peptonwasser, und was die chemischen Umsetzungen betraf. Die Nitrosoindolreaction konnte in 1% Peptonwasser, dem 0,5% NaCl zugesetzt war, schon von der neunten Stunde nach Einsetzen in den Brütschrank an nachgewiesen werden.

Es ist nun zunächst von Wichtigkeit, die Versuche mitzutheilen, welche mit dieser Cultur angestellt wurden, um den Grad ihrer Virulenz festzustellen. Feldmäuse und weisse Mäuse, die Mengen bis zu 1,0 ccm 24stündiger Bouilloncultur I. Generation, bei 37° C. gezüchtet, in die Bauchhöhle injicirt erhielten, waren nach der Einspritzung 24 Stunden lang krank, hatten sich aber dann wieder völlig erholt und zeigten auch später niemals Krankheitserscheinungen. Höhere Dosen einzuspritzen, dürfte sich wegen der Komplicationen, die sich aus dem im Verhältnis zur Grösse der Thiere zu grossen Flüssigkeitsvolumen ergeben, von selbst verbieten. Auch bei einer weissen und einer bunten Ratte war der Erfolg negativ, obgleich jede 2,5 ccm derselben Cultur intraperitoneal erhielt. Die Thiere sassen 2 bezw. 3½ Tage im

Glase mit gesträubtem Fell und ohne Fresslust, in sich zusammengekauert; aber nach dieser Zeit erholten auch sie sich wieder und blieben am Leben.

Die Versuche an Meerschweinchen wurden in der Weise angestellt, dass die Bouilloncultur in sterilisirte Doppelschälchen gegossen, mit kurz vorher ausgekochter Spritze angesogen und den Thieren intraperitoneal eingespritzt wurde. An der Injectionsstelle waren die Haare ganz kurz geschnitten und die ganze Gegend mit Sublimat, Alkohol absol. und Aether gewaschen, dann mit sterilisirter Watte getrocknet. Um den Einstich in den Darm zu vermeiden, war die Canüle vorn nicht spitz, sondern in einem Kreise abgeschliffen, dabei immer äusserst scharf, um ohne Gewaltanwendung durch die Bauchdecken zu kommen. Es gelingt mit solcher Canüle recht gut, die Haut, Unterhaut, Bauchmusculatur und das Peritoneum langsam und nach und nach, Schicht für Schicht, zu durchtrennen, wodurch die Gefahr einer Verletzung des Darmes jedenfalls sehr verringert wird. In der That glaube ich versichern zu können, dass mir diese unangenehme Danebenimpfung niemals begegnet ist. Jedenfalls ist dieses Verfahren wesentlich einfacher als das, welches Lazarus in der Berliner klin. Wochenschrift [1]) zu dem gleichen Zweck angegeben hat, wenn es auch zweifellos an Sicherheit der Beurtheilung des Erfolges von letzterem übertroffen wird. Kamen Agarculturen bei der Impfung zur Anwendung, so wurde die gerade gebrauchte Menge Cultur mit der Oese, und zwar stets derselben Oese, welche 1,5 mgr Material aufnahm, abgekratzt und in destillirtem, kurz vorher sterilisirtem und erkaltetem Wasser aufgelöst, welches sich in der sterilen Spritze meist in Mengen von 0,5 ccm befand. Das untere Ende des Glasröhrchens der Spritze wurde dabei mit dem linken Zeigefinger fest zugehalten, der Gummiballon war selbstverständlich während des Einbringens der Culturmenge entfernt. Auf diese Weise erhält man jedenfalls geringere Verluste an Bacterienmaterial, als wenn die Auf-

---

1) Lazarus, Ueber die antitoxische Wirkung des Blutserums Cholerageheilter. Berliner klin. Wochenschr. 1892, Nr. 43 u. 44.

lösung in Wasser (oder Bouillon) in sterilen Schälchen vorgenommen und erst von da mit der Spritze angesaugt wird.

In den zunächst folgenden Versuchen wurden den Meerschweinchen lebende Cholera-Bouillonculturen eingespritzt, die 24 Stunden bei 37° C. gestanden hatten (II. Generation). Die Wirkung der Culturen wurde, wie allgemein üblich, durch Messung der Temperatur der Thiere im After geprüft, das einzige und ausgezeichnete Mittel, was uns zu diesem Zweck zur Verfügung steht.

Die Temperatur vor der Impfung ist am Morgen des Impftages, 9 Uhr, gemessen, die Impfung um 12 Uhr vorgenommen, die Temperaturen des nächsten Tages um 9 Uhr Morgens und 5 Uhr Abends. Die Messungen sind in allen Fällen von derselben Person, in genau derselben Weise mit demselben oder einem genau verglichenen Instrument ausgeführt worden; bei Temperaturen unter 34° C. mit stets demselben, ebenfalls in Zehntelgrade getheilten Celsius'schen Thermometer.

Nr.	Gewicht	Menge	Temperatur				
			vorher	nach 2 St.	nach 4 St.	nach 6 St.	nach 8 St.
1	441 g	0,5 ccm	38,5	39,8	38,7	38,4	37,4
2	475 ,,	1,0 ,,	38,4	39,4	40,3	39,8	38,5

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
3	438 g	1,5 ccm	38,5	39,5	38,4	38,0	—	37,8	37,8
4	423 ,,	2,0 ,,	38,7	39,6	38,6	37,7	—	38,3	38,4
5	409 ,,	2,5 ,,	38,5	38,6	38,1	35,3	—	37,4	37,9
6	406 ,,	3,0 ,,	38,4	37,9	37,6	—	—	†	
7	448 ,,	3,5 ,,	38,4	37,9	37,4	—	—	26,5	†
8	391 ,,	4,0 ,,	38,4	37,7	37,6	—	—	14,0	†
9	425 ,,	4,5 ,,	38,4	37,8	37,7	—	—	†	
10	412 ,,	5,0 ,,	38,4	37,5	37,4	—	—	†	

Als geringste Dosis der angewandten Cultur, welche Meerschweinchen im Gewicht von 400 g zu tödten vermochte, würde

also 3,0 ccm zu gelten haben. Wir sehen ferner aus dieser Tabelle, dass kleinste Dosen überhaupt keine Temperaturherabsetzung, sondern nur eine schnell vorübergehende Steigerung um 1 bis 2° C. verursachen, dass mittlere Dosen schon eine beträchtliche Herabsetzung der Temperatur, bis zu 3° C. in 6 Stunden, hervorzurufen vermögen und dass die tödtlichen Dosen sehr verschieden rasch wirken; ferner, dass dabei ganz ausserordentlich niedrige Grade der Eigenwärme dieser Thiere beobachtet werden können, zumal kurz vor ihrem Tode. In Bezug auf diesen Punkt, die Temperaturen vor dem Tode habe ich in Wagner's Handwörterbuch der Physiologie in dem Artikel über »thierische Wärme« von Nasse eine Angabe gefunden, wonach er bei einem »langsam sterbenden« Kaninchen durch Rectaluntersuchung eine Eigenwärme von 17° R. = 21,25° C. feststellen konnte. Die oben erwähnten Thiere haben bei der Messung noch deutlich geathmet.

Zu gleicher Zeit mit diesen Versuchen wurden dann Cholera-Bouillonculturen derselben Herkunft und derselben Generation, die 1½ Stunden im Dampftopf bei 100° C. sterilisirt worden waren, dann durch ein Müncke'sches Bacterienfilter passirt hatten, Meerschweinchen intraperitoneal injicirt. Die Culturen hatten 2 × 24 Stunden bei 37° C. gestanden, und bis zur Gewinnung des Filtrats waren noch einmal 24 Stunden vergangen; insoweit also die Erzeugung von giftigen Stoffwechselproducten in Betracht kommt, musste dieselbe hier grösser geworden sein, als im ersten Falle, wo die Bouilloncultur schon nach 24 Stunden zur Verwendung kam.

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
1	430 g	5,0 ccm	38,5	37,9	36,1	31,2	28,5	†	
2	620 „	5,0 „	38,5	39,3	40,0	39,5	39,3	38,3	—
3	390 „	4,0 „	37,8	38,5	39,0	39,2	39,0	38,3	—
4	360 „	3,0 „	37,9	37,9	37,2	37,1	37,7	37,7	—
5	325 „	2,0 „	38,0	38,5	38,7	38,6	38,0	38,1	—

Die fast gänzliche Uebereinstimmung im Gewicht der Thiere wie im 1. Versuch war hier nicht zu erreichen gewesen, ausserdem war No. 1 hochgradig tragend, und No. 4 anscheinend schon vor der Injection nicht ganz gesund, da es ruhig auf der Seite liegen blieb, wenn es umgelegt wurde, und einige Tage ohne Fresslust gewesen war. Die tödtliche Wirkung bei No. 1 ist mit Wahrscheinlichkeit dem graviden Zustand zuzuschreiben — solche Thiere sind nach unseren Erfahrungen überhaupt für eine Reihe von Intoxicationen und Infectionen zugänglicher als andere. Schaltet man ausserdem Nr. 4 aus, so zeigt sich, dass eine Dosis von 4 ccm eben eine geringe, von 5 ccm eine beträchtlichere Steigerung der Eigenwärme hervorzurufen vermag, ungefähr so, wie es bei der lebenden Cultur mit 1,0 ccm erreicht war. Die sterilisirte filtrirte Cultur wäre also etwa fünf Mal weniger wirksam gewesen, als die lebende. Dosen von 2 ccm haben überhaupt einen deutlichen Effect nicht mehr hervorgebracht. Die Wirkung der lebenden Cultur ist also eine wesentlich andere als die der abgetödteten und filtrirten. Doch scheinen mir diese Unterschiede nur quantitativer, nicht qualitativer Art zu sein.

Agarculturen sind damals bei den ersten Generationen gar nicht geprüft worden, sondern erst zwei Wochen später, als die Bouilloncultur schon bedeutend an Virulenz eingebüsst hatte.

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St	29 St.
1	462 g	3,0 ccm 24stündiger Bouillon-Cultur 10. Gener.	38,5	38,5	38,7	38,9	39,5	38,0	38,6
2	469 „	2,5 ccm	38,5	38,1	38,9	39,1	38,9	37,5	38,4
3	460 „	2,5 „	38,4	37,7	38,3	38,9	39,3	38,2	38,5

Bei dem letzten Thier war bei der Impfung eine starke Blutung aus dem Stichkanal der Canüle erfolgt, also ein grösseres Gefäss verletzt worden. Daher auch wohl die Herabsetzung der Temperatur nach zwei Stunden. Im Uebrigen ersieht man, dass diejenige Dosis, welche bei der ersten Virulenzprüfung als eben noch tödtliche Minimaldosis zu gelten hatte, in diesem Versuche

kaum eine geringe Steigerung der Temperatur in den nächsten Stunden hervorzurufen vermochte.

Am nächsten Morgen war freilich bei allen drei Thieren die Temperatur niedriger als am Impftage vor der Impfung, und es ist sehr wohl möglich, dass in der Nacht eine geringe Herabsetzung der Eigenwärme vorhanden gewesen ist, auch unter die am nächsten Morgen beobachtete Temperatur. Dass dieselbe nur eine geringe gewesen sein kann, möchte ich daraus schliessen, dass diese Thiere alle eine ganz geringe Gewichtsabnahme, im höchsten Falle 11 g, aufwiesen, die ausserdem schon am zweiten Tage nach der Impfung wieder ausgeglichen war, während das Krankheitsbild bei stärker vergifteten Thieren in der Regel zwei bemerkenswerthe Momente aufweist: die Temperaturherabsetzung nach oder ohne vorhergehende Steigerung der Eigenwärme und eine langdauernde Gewichtsabnahme. Die Thiere, welche eine ausgeprägte Temperaturerniedigung überstehen, zeigen fast immer am nächsten Tage ein Gewichtsminus von 30—40 g, verlieren in den nächsten Tagen noch weiter rapide an Gewicht, so dass sie bis zum 4. oder 5. Tage 60—120 g an Gewicht abgenommen haben, und fangen nun erst, also vom 5. oder 6. Tage ab, wieder an zuzunehmen, um langsam, bis zum 10.—14. Tage nach der Impfung ungefähr, ihre ursprüngliche Schwere wiederzugewinnen oder zu überschreiten. Irgend welche sonstige Krankheitserscheinungen sind von dem Augenblick der Erreichung normaler Temperatur bei solchen stark aber nicht tödtlich vergifteten Thieren nicht mehr zu bemerken, dieselben sind wieder ganz munter, fresslustig und beherrschen ihr Muskelsystem wieder in ausgezeichneter Weise. Die oben angegebenen Gewichtsschwankungen werden sich natürlich je nach der Dosis der eingespritzten Cultur, nach dem Körpergewicht der Thiere und anderen Factoren verschieden verhalten, höher oder niedriger sein, längere oder kürzere Zeit dauern. Das geschilderte Verhalten ist der Typus für diejenigen Fälle, in denen nahezu tödtliche Dosen eine starke Herabsetzung der Eigenwärme, bis zu 33° und noch darunter, bewirkt haben, und wo auch die Temperatur erst allmählich, im Laufe des 2. ja

3. Tages zur Norm zurückkehrte. Beispiele für diesen Typus finden sich in den nachfolgenden Protokollen zahlreich; besonders hinweisen will ich aus der grossen Tabelle im nachfolgenden zweiten Abschnitt, über Versuche zur Steigerung der Immunität, auf die Thiere Nr. 3 und 5 (Impfung vom 18. XI. 92). Nr. 30 (Impfung vom 6. XII. 92), Nr. 46 (18. I. 93), Nr. 48 (2. II. 93), bei denen die allmähliche Restitution der normalen Eigenwärme im Laufe des zweiten Tages und der Gewichtsverlust besonders deutlich erkennbar sind.

Zugleich mit diesen schon abgeschwächten Bouillonculturen wurden nun Agarculturen der Cholera »Frohnert«, die 20 Stunden bei 37,5 ° C. im Brütschrank gestanden hatten und von demselben Röhrchen wie diese Bouillonculturen abgeimpft waren, auf ihre Giftigkeit geprüft. Die Art der Auflösung und Einverleibung des Bacterienmaterials ist oben schon angegeben. Zum Vergleich der nachstehend angegebenen Maass- und Gewichtsbestimmungen mit denen anderer Autoren sei kurz bemerkt, dass die angewendete Oese mit 1½ mg Material etwa drei Viertheilen der von R. Pfeiffer in seinen letzten Publikationen[1]) angegebenen Einheit entsprach.

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
1	480 g	1,5 mg . . .	38,5	38,0	37,2	36,8	—	35,0	34,0
		Am 2. Tag todt gefunden. Gewichtsabnahme 40 g.							
2	425 g	0,75 mg . . .	38,4	38,7	38,9	39,1	—	38,4	38,5
3	390 „	0,375 mg . .	38,4	38,4	38,8	38,9	—	38,6	38,4

Die Giftigkeit war also nicht unbedeutend. Indess aus der langen Verzögerung des Todes bei dem ersten Versuchsthiere kann man den Schluss ziehen, dass die Dosis gerade eben noch ausgereicht hat, den letalen Effect herbeizuführen. Auch hier sieht man, wie bei den Bouillonculturen die weit unter den tödtlichen liegenden Dosen eine Steigerung der Temperatur erregen.

1) R. Pfeiffer und Issaeff, Ueber die specifische Bedeutung der Choleraimmunität. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. XVII, S. 355 ff.

Wenn man aus dieser Thatsache der Abschwächung der Bouillonculturen und der Feststellung von 1½ mg Agarcultur als tödtlicher Minimaldosis den Schluss ziehen wollte, dass die Agarculturen I. oder II. Generation in weit kleineren Dosen als eine Oese den Tod herbeigeführt haben würden, dass etwa damals ⅕ Oese oder 0,3 mg Agarcultur zur Herbeiführung des Todes genügt hätten, so dürfte dieser Schluss als voreilig bezeichnet werden. Es wird sich noch weiter unten Gelegenheit finden, darauf zurückzukommen; doch sei es schon hier hervorgehoben, dass die Virulenz gerade bei den Agar- und Bouillonculturen von Cholerabacterien ganz ausserordentlichen, plötzlich ohne irgend welche erkennbare Ursache auftretenden Schwankungen unterworfen ist — ein Punkt, der ja auch bei der Steigerung der Immunität der Versuchsthiere gegen die intraperitoneale Infection von der allergrössten Wichtigkeit ist und, wie sich noch zeigen wird, die allergrössten Schwierigkeiten bereitet — es sei hervorgehoben, dass von demselben Agarröhrchen abgeimpfte, unter ganz den gleichen Bedingungen, soweit das möglich und erkennbar ist, gehaltene, ganz dem gleichen Nährboden derselben Provenienz übertragene Agarröhrchen bezw. Bouillonröhrchen unter sich die ausserordentlichsten Verschiedenheiten ihrer Virulenz in ihrer Wirkung auf Versuchsthiere aufweisen. Es können die neuen Röhrchen annähernd die gleiche Giftigkeit wie das Mutterröhrchen zeigen, es kann aber auch vorkommen, dass einzelne derselben einen deutlich geringeren, andere einen weit erheblicheren Einfluss auf die Versuchsthiere ausüben, und es ist deshalb unbedingt nothwendig, in Bezug auf die Beurtheilung der Virulenz bei Choleraculturen recht vorsichtig zu sein, ja womöglich niemals ein Röhrchen in dieser Beziehung nach den geprüften Eigenschaften eines anderen Röhrchens derselben Herkunft und genau derselben Behandlung zu beurtheilen. Aus den angegebenen Gründen halte ich es auch für unmöglich, irgend einen zutreffenden Schluss auf die etwaige Virulenz der ersten Generationen der Cholera Frohnert auf Agar-Agar aus der Thatsache zu ziehen, dass die Bouillon-

culturen, von denen die geprüften Agarröhrchen stammten, um etwa das Fünffache gegen die zuerst geprüften Bouillonculturen abgeschwächt waren.

Es ist bekannt — Gruber und Wiener haben es in ihrer schönen Arbeit über Cholerabacterien zuerst besonders hervorgehoben[1]) —, dass die älteren Agar- und wohl auch sonstigen Culturen der Kommabacillen in ganz auffallender Weise weniger virulent sind als ganz frische Culturen. Die oben genannten Autoren haben gezeigt, dass bei diesen Verhältnissen schon wenige Stunden ausschlaggebend sein können. Es sei hier kurz ein Versuch berichtet, der die Angaben von Gruber und Wiener auch für die Cultur Frohnert bestätigt. Dasselbe Agarröhrchen, von dem die letzterwähnten Meerschweinchen geimpft waren, wurde sofort nach der Herausnahme des Bacterienmaterials, die möglichst schnell vorgenommen wurde, ohne wesentlich erkaltet zu sein, wieder in den auf 35,5° C. eingestellten Brutschrank zurückgebracht und am nächsten Morgen von neuem geprüft.

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
1	430 g	1,5 mg 2täg. Ag.C.	38,6	39,4	39,4	39,5	38,9	38,5	38,5
2	435 „	2,25 „ „ „	38,4	39 2	39,3	39,6	39,3	38,7	38,5

Also selbst mit einer weit höheren Dosis, als am Tage vorher für ein Meerschweinchen von gleichem Gewicht tödtlich war, lässt sich nicht einmal eine Herabsetzung der Temperatur erzielen.

Bei Bouillonculturen war es — in einem darauf hin geprüften Falle — nicht möglich, eine wesentliche Herabsetzung der Virulenz nachzuweisen, ja man könnte sogar aus diesem einen Falle eine Erhöhung der Virulenz bei älteren Bouillonculturen herauslesen.

1) Gruber und Wiener, Cholerastudien I. Archiv f. Hyg., Bd. XV, S. 242 ff.

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
1	736 g	5,0 ccm 8 Tage alter Ch. B. C.	38,4	37,9	37,7	37,2	36,8	†	

Schon Abends um 10 Uhr wurde das Thier todt gefunden. Die Bouilloncultur stammt aus demselben Erlenmeyer'schen Kölbchen mit Cholera Frohnert II. Generation, aus welchem auch die ersterwähnten Thiere geimpft worden sind. Die tödtliche Minimaldosis betrug damals 3,0 ccm. Das damals mit 5,0 ccm geimpfte Thier war aber noch warm, als es am nächsten Tage todt gefunden wurde, konnte also noch nicht lange gestorben sein, während dies ausserdem weit schwerere Thier schon 10 Stunden nach der Impfung erlegen war.

Auch für Kaninchen wurde die Virulenz der Cultur geprüft. Zuerst wurden Kaninchen 24stündige Bouillonculturen, bis 37° C. gezüchtet, bis zu 10 ccm auf einmal in die Bauchhöhle gebracht, ohne dass die Thiere auch nur die geringsten Krankheitserscheinungen, geschweige denn Veränderung der Eigenwärme gezeigt hätten. Erst als grössere Mengen von Agarculturen, 24stündig und bei 37,8° C. gewachsen, eingespritzt wurden, zeigte sich eine deutliche, schliesslich auch tödtliche Wirkung.

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St	6 St.	8 St	19 St.	29 St.
1	1685 g	3 Ch. Ag. C.	39,2	37,5	38,8	39,0	39,1	39,3	39,3
2	1655 „	5 „ „	39,4	38,9	38,1	35,9	†		
3	1790 „	5 „ „	39,2	38,6	37,3	37,0	—	†	

Diese Agarculturen waren ebenfalls von der bereits abgeschwächten Bouilloncultur aus angelegt; man sieht, dass ganz enorme Dosen nothwendig waren, um die Kaninchen zu tödten. Versuche mit intravenöser Injection des Materials bei Kaninchen sind nicht angestellt worden.

In Bezug auf die Krankheitserscheinungen und Leichenbefunde muss ich viel Allbekanntes und oft Beschriebenes wiederholen, wenn ich eine nähere Schilderung geben soll. Ausser dem

Abfall der Temperatur zeigten die Thiere in übereinstimmender Weise nach einigen Stunden auffallende Mattigkeit, sie sassen zusammengekauert mit gesträubten Haaren, waren schliesslich an den hinteren Extremitäten gelähmt, legten sich auf die Seite und starben dann sehr bald. Bei der Section zeigte sich selten ein Oedem an der Impfstelle, kaum dieselbe überschreitend, immer eine kolossale Injection sämmtlicher Blutgefässe. Die äusseren Drüsen waren nicht geschwollen, an der Bauchmuskulatur fielen zahlreiche Hämorrhagien in's Auge. Beim Oeffnen der Bauchhöhle zeigte sich eine verschiedenartig gefärbte und zusammengesetzte von Cholerabacterien wimmelnde Flüssigkeit überall zwischen den Darmschlingen und besonders in den abhängigen Theilen der Bauchhöhle in Mengen von 0,6—1,0 ccm und darüber. Der Blut- und Zellengehalt der Flüssigkeit, der ohne erkennbare Ursache ganz unregelmässig wechselte, bedingte die obigen Verschiedenheiten. An dem parietalen und visceralen Blatt des Peritoneums, in den Magen- und Darmwandungen waren ebenfalls die stark erweiterten Gefässe prall mit Blut gefüllt. Im muskulösen Theil des Zwerchfells fanden sich stets besonders deutliche Hämorrhagien. Der Rand von Leber und Milz, zuweilen die ganze Oberfläche beider Organe war überzogen mit einem verschieden dicken, weissgelblichen Belag, der sich leicht abziehen liess und neben Fibrin kolossale Massen von gekrümmten Stäbchen enthielt. Die letzteren waren aus Belag und aus der Flüssigkeit entschieden im gefärbten Präparat wesentlich kleiner, kürzer und schmäler, auch nicht so deutlich gekrümmt als von den künstlichen Nährböden. Das Netz war stets besonders stark injizirt und lag meist als rother Wulst an der grossen Kurvatur des Magens. Die Därme waren — nicht immer — etwas aufgetrieben und mit einer weissgelblichen Flüssigkeit gefüllt, in der sich Cholerabacterien nur sehr selten nachweisen liessen. An den Nieren war nichts besonderes, die Harnblase immer stark gefüllt. In den Pleurasäcken war immer eine klare seröse, zuweilen blutige Flüssigkeit bis zu 1,0 ccm und mehr. Das Perikard war ebenfalls immer von dem Herzen abgehoben, und der Zwischenraum mit völlig klarem

Serum erfüllt. Beide Flüssigkeiten, pleuritische und perikardiale, enthalten immer wechselnde Mengen von Cholerabacterien. Auf diesen Bacteriengehalt wird später noch ausführlicher zurückzukommen sein. Die Lungenoberfläche war fleckig, dunkelrothe Stellen wechselten mit helleren ab, Lungen und Herz waren ebenfalls stark mit Blut gefüllt. Auch von Veränderungen der inneren Drüsen war nichts zu bemerken.

I. Ueber die Virulenzveränderungen des Choleravibrio.

Durch eine Reihe von Untersuchungen wissen wir, dass die verschiedensten pathogenen Bacterienarten, empfänglichen Thieren in verschiedenen Generationen kurz hintereinander einverleibt, derart, dass die bacterienhaltigen Körpersäfte des gestorbenen Thieres sofort ohne Vermittelung künstlicher Nährböden anderen Thieren injizirt werden, an Virulenz für die gewählte Thierspecies oder auch für andere Thiere ganz ausserordentlich zunehmen. Für die Cholerabacterien ist der Beweis für diese Thatsache in besonders schöner Weise von Gruber und Wiener[1]) erbracht worden. Die Befunde, welche wir in dieser Frage erhalten haben, stimmen nicht ganz mit den bisher veröffentlichten überein. Vor der Mittheilung derselben sei es gestattet, kurz das angewandte Verfahren zu schildern. Die Impfung wurde immer in der schon angegebenen Weise intraperitoneal vorgenommen; das Impfmaterial sofort nach Oeffnung der Bauchhöhle mit frisch sterilisirter Spritze aus dem sich stets findenden peritonealen Exsudat entnommen — wo andere Säfte verwandt wurden, ist dies besonders angegeben — und neuen Thieren in die Bauchhöhle gespritzt. Die eingegangenen Thiere hatten verschieden lange Zeit, jedenfalls nicht über 12 Stunden nach ihrem Tode, gelegen. Die Zeit hierfür bemisst sich verschieden je nach der Stunde der Nacht, in welcher der Tod der Thiere eingetreten war. Letztere lässt sich naturgemäss nicht mit Genauigkeit feststellen. Bei den Thieren, welche Nachts eingegangen waren, wurde am anderen Morgen

1) Gruber und Wiener, Cholerastudien I. Archiv f. Hygiene, Bd. XV, S. 242 ff.

durch Legen auf Eis bis zur Zeit der Section ein Hintanhalten von intensiven Fäulnisprocessen erstrebt. Einige Thiere konnten auch sofort nach dem am Tage nach der Impfung erst erfolgten Tode geöffnet, und die Entnahme des Materials vorgenommen werden. Irgendwelche Unterschiede zwischen diesen letzteren und den ersterwähnten Versuchsthieren in Bezug auf die Virulenz des bacterienhaltigen Peritonealexsudats konnten nicht festgestellt werden. Wie es mit dem Gehalt an Bacterien aussah, wird später erwähnt werden.

Bevor ich zur Beschreibuug einer längeren Kette von Versuchsthieren übergehe, erscheint es nicht unnöthig besonders zu betonen, dass es durchaus nicht immer gelingt, solche längere Versuchsreihen zu erhalten. Die Reihe reisst häufig schon im Anfang ab, indem Thiere auf kleinere oder ganz enorme Mengen reichlich bacterienhaltigen Materials (Bauchhöhlenflüssigkeit) nicht mehr eingehen, ja kaum mit einer geringen Temperaturerniedrigung antworten und am nächsten Tage völlig munter sind. Folgende Experimente mögen das Gesagte erläutern:

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
1	520 g	1/4 Ch. Ag. C. 24 Std. alt i. p.	38,0	38,2	37,6	36,2	35,8	†	
2	280 „	0,5 ccm Bauch höhlenfl. v. Nr. 1	37,9	37,6	37,0	36,0	35,4	†	
3	250 „	0,25 ccm B. Fl. von Nr. 2	37,8	38,2	37,4	36,8	36,3	†	
4	264 „	0,5 ccm B. Fl. von Nr. 2	38,0	38,3	37,8	37,6	37,8	38,1	
5	280 „	0,5 ccm B. Fl. von Nr. 3	38,0	38,2	37,9	38,0	38,1	38,0	

Thier Nr. 4 bleibt am Leben, ohne irgend bemerkenswerthe Temperaturherabsetzung zu zeigen, während Nr. 3 auf die halbe Dosis innerhalb der Nacht stirbt. Aber auch dies Thier zeigt schon eine geringe Temperaturerniedrigung und das nächste von ihm mit Bauchhöhlenexsudat geimpfte Thier Nr. 5 bleibt trotz der

grossen Dosis von 0,5 ccm am Leben, womit die Reihe ihren Abschluss erreicht. Zuweilen tritt das Ende schon früher ein.

Nr.	Gewicht	Menge	Temp vor d. Impf.	Temperatur nach 2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
1	380 g	1/4 Ch. Ag. C. 24 Std. alt i. p.	38,2	38,4	37,4	36,7	35,8	†	
2	300 „	0,5 ccm B. Fl. von Nr. 1	38,0	38,2	37,9	37,4	36,8	†	
3	280 „	0,5 ccm B. Fl. von Nr. 2	38,0	38,0	38,1	37,9	38,3	38,0	
4	290 „	0,4 ccm B. Fl. von Nr. 2	37,9	37,8	37,9	37,4	37,6	38,0	

Beide Thiere bleiben dauernd gesund. Noch ein Beispiel:

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach 2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
1	350 g	1/4 Ch. Ag. C. 24 Std. alt i. p.	38,2	38,3	37,6	36,3	35,9	†	
2	260 „	0,6 ccm B. Fl. von Nr. 1	37,8	38,0	37,9	37,6	38,0	37,9	
3	270 „	0,5 ccm B. Fl. von Nr. 1	38,0	38,0	37,9	37,7	37,8	37,8	
4	275 „	0,4 ccm B. Fl. von Nr. 1	37,8	38,1	38,2	37,4	37,6	37,9	

Hier gelang es also überhaupt nicht, mit dem intraperitonealen Exsudat andere Thiere zu tödten oder überhaupt einen merklichen Einfluss auf sie auszuüben. Da diese Versuche mit derselben Choleracultur Frohnert ausgeführt sind, nachdem dieselbe sehr abgeschwächt war, die gleich zu beschreibende lange Reihe aber bald nach Gewinnung derselben aus dem Stuhl der Erkrankten, so könnte man vielleicht diesem Umstande einige Bedeutung für den Ausfall der Kettenlänge beimessen. Es ist aber nicht ausgeschlossen, dass auch noch andere bisher völlig unbekannte Faktoren dabei mitwirken.

Es soll nun eine lange Kette von Versuchsthieren beschrieben werden, in deren Verlauf Eigenthümlichkeiten beobachtet wurden, die nicht ohne Interesse sein dürften.

Am 19. XI. 1892 wurde mit dem Versuche der Virulenzsteigerung bei der Cholera Frohnert begonnen. Von einem 550 g schweren Meerschweinchen, das intraperitoneal am 18. XI. mit 3,0 ccm 24stündiger, bei 37° C. gewachsener Cholerabouilloncultur 12. Generation, denen zwei Oesen 24stündiger Agarcultur derselben Herkunft beigemischt waren, geimpft war, und das nach dem typischen Temperaturabfall am Nachmittage des Impftages am nächsten Morgen 7 Uhr todt, aber noch nicht erkaltet, aufgefunden war, werden Theile der sehr reichlich vorhandenen Bauchhöhlenflüssigkeit entnommen, auf Reinheit geprüft und dann neuen Meerschweinchen in verschiedenen Mengen um 12 Uhr Mittags eingespritzt (B.Fl. bedeutet Bauchhöhlenflüssigkeit).

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
1	313 g	1,0 ccm B. Fl. von M. v. 18. 11	38,5	38,4	37,6	37,3	—	† kalt	
2	310 „	0,5 ccm B. Fl. von M. v. 18. 11	38,4	38,3	38,0	37,6	—	† kalt	
3	320 „	0,1 ccm B. Fl. von M. v. 18. 11	38,4	38,4	38,2	37,9	—	37,4 bleibt	37,9 leben

Es folgen, immer mit dem Bauchhöhlenexsudat eines der am selben Tage todt gefundenen Thiere intraperitoneal geimpft:

Am 20. XI.

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
4	312 g	0,5 ccm B. Fl. von M. 1	38,3	38,0	37,6	36,3	—	† kalt	
5	251 „	0,4 ccm B. Fl. von M. 1	38,4	38,1	37,2	36,0	—	† kalt	

Am 21. XI.

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
6	219 g	0,5 ccm v. M. 5	38,7	38,2	37,9	37,7	36,9	† kalt	
7	218 „	0,3 „ v. M. 5	38,4	38,2	37,8	37,5	36,2	† kalt	

Am 22. XI.

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
8	235 g	0,5 ccm v. M. 6	38,3	38,0	37,8	37,0	36,8	† kalt	
9	229 „	0,25 „ v. M. 6	38,3	37,8	37,1	36,7	36,5	† kalt	

Am 23. XI.

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
10	210 g	0,5 ccm v. M. 8	38,6	38,2	37,9	37,5	36,8	† kalt	
11	212 „	0,2 „ v. M. 8	38,4	38,4	38,0	37,5	37,1	† kalt	

In den nächsten Tagen werden jedes Mal bei den Thieren, deren Gewicht von 204 bis 220 g schwankt, 0,5 ccm eingespritzt, der Tod erfolgt nach Temperaturabfall jedes Mal, aber bedeutend schneller als früher, so dass die Thiere am 25. XI. schon acht Stunden nach der Impfung todt gefunden werden, während nach sechs Stunden Temperaturen von 34,0 und 34,5 ° C. beobachtet wurden.

Am 26. XI.

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
16	240 g	0,25 ccm v. M. 15	38,0	37,8	36,1	—	35,8	† kalt	
17	195 „	0,1 ccm v. M. 15	38,4	38,8	37,6	—	35,0	† kalt	

Nach 7 Tagen ist also die früher nicht tödtliche Dosis von 0,1 ccm Bauchhöhlenflüssigkeit letal geworden. Es muss jedoch darauf Rücksicht genommen werden, dass das Versuchsthier 125 g leichter war, als das vom 19. XI. Damals waren andere Thiere nicht zu erhalten. Am nächsten Tage wird der Versuch wiederholt.

Am 27. XI.

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
18	240 g	0,25 ccm v. M. 16	38,2	38,1	37,8	36,1	34,0	† kalt	—
19	179 „	0,1 ccm v. M. 16	38,3	38,4	39,8	—	38,6	38,0	38,2

Meerschweinchen Nr. 19 bleibt also zunächst am Leben, nimmt aber bei normaler Temperatur dauernd ab an Gewicht und wird 9 Tage nach der Impfung, nachdem am 8. Tage Abends eine Temperatur von 36,8 beobachtet war, Morgens todt gefunden. Bei der Obduction lassen sich ausser anämischen kleinen Organen und etwas freier Flüssigkeit in dem Bauche Veränderungen nicht nachweisen, ebensowenig irgend welche Bacterien aus Herzblut und Bauchhöhlenflüssigkeit. Wenn wir also auch annehmen, dass das kleine Thier nachträglich in Folge des erlittenen Eingriffes gestorben ist, so ist doch damit höchstens eine Andeutung einer Virulenzzunahme gegen früher gegeben. Am meisten spricht noch dafür die schnelle Herabsetzung der Eigenwärme bei M. 18 auf die Dosis von 0,25 ccm (cf. Thier No. 9).

Am 28. XI. werden geimpft (schwerere Thiere):

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
20	513 g	0,5 ccm v. M. 18	38,2	39,9	38,0	36,5	34,3	† kalt	—
21	430 „	0,1 ccm v. M. 18	38,4	38,7	36,9	35,7	33,9	† kalt	—
22	378 „	0,01 ccm v. M. 18	38,4	39,9	39,7	38,9	39,1	38,5	38,5
								Bleibt leben.	

Die Dosis von 0,01 ccm, wie alle Dosen unter 0,05 ccm, wurde mit einer besonderen Spritze injicirt, deren Glastheil aus einem kalibrirten Kapillarrohr bestand.

Am 29. XI. bekommen die Thiere No. 23 und 24, im Gewicht von 225 bezw. 240 g, je 0,5 ccm von M. 20 und werden am 30. XI. Morgens todt gefunden.

Am 30. XI. erhalten:

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
25	220 g	0,5 ccm v. M. 23	38,5	37,7	36,5	34,0	—	† kalt	
26	215 „	0,05 ccm v. M. 23	38,3	38,1	38,4	36,2	—	26,0 9 Uhr †	
27	220 „	0,05 ccm v. M. 23 — 1/2 gtt.	38,2	37,9	37,9	36,8	—	33,5 12 U. †	
28	197 „	0,05 ccm v. M. 23	38,3	37,8	37,0	35,0	—	† kalt	

Hier ist also bereits eine beträchtlich geringere Menge von Impfmaterial nothwendig, um den Tod herbeizuführen. Am 1. XII. wird den beiden neuen Thieren (210 bezw. 220 g schwer) je 0,05 ccm von M. 25 eingespritzt, die Temperaturen, die Abends nach 8 Stunden beobachtet wurden, betrugen 34,0 bezw. 35,0° C. Am nächsten Morgen werden die Meerschweinschen völlig erkaltet aufgefunden.

Am 2. XII. bekommen:

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
31	285 g	0,05 ccm v. M. 29	38,2	38,8	37,0	36,3	35,0	† kalt	—
32	280 „	0,03 ccm v. M. 29	38,4	39,2	37,4	37,1	36,9	37,9 bleibt	38,4 leben

Am 3. XII. bekommen zwei Meerschweinchen im Gewicht von 220 bezw. 225 g je 0,1 bezw. 0,05 ccm von M. 31 und gehen in der Nacht ein.

Am 4. XII. erhalten:

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
35	207 g	0,05 ccm v. M. 33	38,2	38,0	36,9	36,7	35,8	† kalt	
36	211 „	0,01 ccm v. M. 33	37,9	37,9	38,3	37,1	36,9	25,0 10 U. †	

Am 5. XII. erhalten drei Thiere (Gewicht 220, 220 und 320 g) je 0,1, 0,05 und 0,01 ccm von Meerschweinchen 35. Die beiden ersten gehen in gewöhnlicher Weise ein, das letzte erst am 2. Tage nach dem Impftag um 2 Uhr, nachdem sich zuerst

eine Erhöhung der Temperatur um 2° C., dann sehr allmählich eine Verminderung bis auf unter 30° C. eingestellt hatte. Der Befund liess nicht daran zweifeln, dass es sich um die specifische Todesursache handelte. Am 6. XII. werden drei Meerschweinchen im Gewicht von 206, 195 und 308 g mit 0,1, 0,05 und 0,05 ccm von M. 38 geimpft, sterben alle drei in der Nacht, ohne Besonderheiten zu zeigen. Am 7. und 8. XII. werden je zwei Meerschweinchen, am 7. XII. 270 und 240, am 8. XII. 230 und 219 g wiegend, mit 0,1 bezw. 0,05 ccm von M. 41 bezw. M. 43 geimpft, sterben in der Nacht, nach Eintritt der gewöhnlichen Erscheinungen.

Am 9. XII. folgen:

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
47	**215 g**	**0,1 ccm v. M. 45**	38,4	37,2	36,9	36,3	35,5	† kalt	—
48	**209 „**	**0,05 ccm v. M. 45**	38,2	38,4	38,2	37,9	38,0	38,0	38,2
								bleibt	leben.

Diese plötzliche Abnahme der Wirksamkeit einer bisher unbedingt tödtlichen, die letale Minimaldosis weit überschreitenden Menge des Impfmaterials musste im höchsten Grade überraschen.

Am 10. XII. wurde aus Mangel an Zeit nur 1 Thier mit 0,1 ccm von M. 47 geimpft.

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
49	195 g	0,1 ccm v. M. 47	38,5	36,2	—	35,5	34,0	† kalt	

Mit dem Bauchhöhlenexsudat dieses Thieres werden am 11. XII. zwei neue Thiere geimpft und zwar:

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
50	**250 g**	**0,1 ccm v. M. 49**	38,4	37,1	36,6	36,0	—	† kalt	—
51	**248 „**	**0,05 ccm v. M. 49**	38,3	37,9	37,4	36,5	—	36,9	38,3
								bleibt	leben.

Am 12. XII. werden geimpft:

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
52	271 g	0,5 ccm v. M. 50	38,3	37,8	37,2	36,7	36,0	† kalt	—
53	269 „	0,1 ccm v. M. 50	38,2	38,3	37,9	37,0	36,2	† kalt	—
54	250 „	0,05 ccm v. M. 50	38,4	38,8	38,8	39,9	40,4	39,0 bleibt	38,4 leben
55	225 „	0,05 ccm v. M. 50	38,3	37,1	36,4	35,9	34,0	† kalt	—

Das nur wenig kleinere Thier 55 ging also jetzt auf die Dosis von 0,05 ccm wieder ein, während das etwas schwerere am Leben bleibt und keine Temperaturherabsetzung, sondern Erhöhung aufweist. Dass jedoch den Gewichtsverhältnissen dabei nicht eine allein ausschlaggebende Rolle zukommen kann, beweist uns M. 48, das ein noch geringeres Gewicht vor der Impfung zeigte, als M. 55, aber nach derselben Dosis am Leben blieb. In den nächsten drei Tagen werden täglich zwei Meerschweinchen mit 0,1 bezw. 0,05 ccm der Bauchhöhlenflüssigkeit eines der am Morgen des betreffenden Tages todt gefundenen Thiere eingespritzt, dieselben gehen regelmässig, und zwar verhältnismässig schneller als früher, zu Grunde.

Am 13. XII.:

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
56	210 g	0,05 ccm v. M. 55	37,9	36,5	35,9	33,5	25,0 ¼ Std. spät. †	—	
57	188 „	0,1 ccm v. M. 55	38,0	36,2	35,0	31,0	†	—	

Am 14. XII.:

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
58	196 g	0,1 ccm v. M. 56	38,1	37,9	35,0	33,0	26,0	† kalt	
59	190 „	0,05 ccm v. M. 56	37,9	39,0	35,5	34,0	22,0 liegt auf der Seite	† kalt	

Am 15. XII.:

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach 2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
60	270 g	0,1 ccm v. M. 58	38,2	38,6	36,5	35,0	30,0	† kalt	
61	245 „	0,05 ccm v. M. 58	37,8	37,4	36,1	35,5	31,0	† kalt	

Am 16. XII.:

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach 2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
62	275 g	0,1 ccm v. M. 60	38,4	37,5	35,5	32,5	29,0 auf der Seite liegend	† kalt	
63	220 „	0,05 ccm v. M. 60	38,4	37,2	35,0	32,0	30,0 ebenso.	† kalt	

Die Herabsetzung der Eigenwärme tritt also sehr viel schneller ein, als in den bisher beschriebenen Fällen, und es werden ganz ausserordentlich niedrige Temperaturen beobachtet, die mit meinem gewöhnlich benutzten Thermometer zur Bestimmung der Körperwärme gar nicht mehr festzustellen waren, weshalb man sich eines gewöhnlichen 100theiligen Thermometers zur Messung dieser Thiere bedienen musste, dessen Gang mit dem des sonst gebrauchten Thermometers verglichen war.

Am 17. XII. wurde versucht, festzustellen, ob etwa die früher gegebenen geringeren Dosen unter 0,05 ccm zur letalen Wirkung wieder ausreichten:

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach 2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
64	235 g	0,05 ccm v. M. 63	37,9	37,4	35,5	34,0	32,5 auf der Seite liegend	† kalt	—
65	270 „	0,1 ccm v. M. 63	38,4	38,5	35,0	34,0	32,0 ebenso	† kalt	—
66	255 „	0,03 ccm v. M. 63	38,1	39,8	37,6	37,3	37,8	38,3	38,4
							bleibt leben.		

Das war also nicht der Fall.

Am 18. XII. werden wieder zwei Thiere mit 0,1 und 0,05 ccm geimpft.

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach						
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
67	195 g	0,1 ccm v. M. 64	38,2	38,0	36,5	36,0	—	† kalt	—
68	190 „	0,05 ccm v. M. 64	38,4	37,8	37,0	36,9	—	37,9	38,4
							bleibt leben.		

Am 19. XII.:

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
69	210 g	0,1 ccm v. M. 67	37,8	37,2	36,4	35,0	33,0	† kalt	
70	200 „	0,05 ccm v. M. 67	38,3	37,6	36,5	36,0	34,0	† kalt	

Am 20. XII.:

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
71	185 g	0,1 ccm v. M. 69	37,9	38,0	37,0	36,1	35,5	† kalt	—
72	200 „	0,05 ccm v. M. 69	38,0	37,9	36,9	36,3	35,5	37,5	38,4

Letzteres Thier No. 72 zeigte eine lange dauernde Gewichtsabnahme, bis zu 50 g, erholte sich aber wieder und blieb am Leben. Zu bemerken ist, dass jetzt die Herabsetzung der Temperatur bei den Thieren regelmässig wieder langsamer erfolgt, als in der Zeit vorher, so dass so auffallend niedrige Temperaturen, wie z. B. am 13. und 14. XII., bei weitem nicht mehr beobachtet werden, und auch der Tod der Thiere wieder in der Nacht erfolgt, ähnlich wie im Beginn der Versuchsreihe, und nicht wie an den ebengenannten Tagen theilweise schon nach 8 Stunden.

Am 21. XII. werden geimpft:

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach					
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
73	180 g	0,1 ccm v. M. 71	38,3	38,6	37,2	36,5	—	† kalt	—
74	185 „	0,05 ccm v. M. 71	38,2	37,7	36,8	37,4	—	38,0	38,4
								bleibt leben.	

Auch hier ist die weit langsamere Herabsetzung der Temperatur wohl zu beachten, ja es scheint sogar, als wenn bei Thier 73 zunächst eine geringe Erhöhung der Eigenwärme eingetreten sei, wie wir es zwar nicht ausschliesslich, aber doch meistens nach Verabreichung nicht tödtlicher Dosen vor dem Eintritt der Temperaturerniedrigung beobachten konnten. Am 22. XII. wurden unvorsichtiger Weise nur wieder die Dosen von 0,1 und 0,05 ccm gegeben.

Nr.	Gewicht	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach						
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	29 St.
75	170 g	0,05 ccm v. M. 73	37,9	39,0	39,4	38,9	38,7	38,3	38,5
76	180 „	0,1 ccm v. M. 73	38,3	37,4	37,2	36,5	36,9	38,0	38,4

Beide Thiere bleiben am Leben, und damit hat die Versuchsreihe von selbst ihr Ende erreicht. Bedauerlich ist, dass nicht noch eine etwas höhere Dosis am 22. XII. gegeben wurde, wozu die geringe und langsam erfolgende Temperaturerniedrigung bei Thier 73 hätte auffordern sollen, um den Versuch vielleicht noch soweit fortzusetzen, bis ev. auch noch höhere Dosen als 0,1 ccm zur letalen Wirkung nicht mehr ausgereicht hätten. Nicht als ob die Versuchsreihe nicht genug Thiere gekostet hätte! Aber es wäre nun auf ein paar Meerschweinchen mehr oder weniger auch nicht angekommen, wenn dadurch ein sichereres Resultat erreicht worden wäre. Immerhin lassen sich auch unter diesen Umständen eine Reihe von Schlüssen aus dieser Versuchsreihe ziehen. Bevor ich jedoch auf dieselben eingehe, möchte ich noch erwähnen, dass die beiden letzten Thiere, Nr. 75 und 76, deren Gewichtsverhältnisse wohl zu beachten sind, im Gegensatz zu fast allen anderen Thieren dieser und anderer Versuchsreihen, nicht nur nicht an Gewicht abgenommen hatten am nächsten Tage, sondern sogar eine geringe Zunahme, Nr. 75 um 10 g, zeigten. Auch die in den letzten Tagen, vom 20. XII. an, nicht gestorbenen Thiere hatten nur einen geringen, kurz andauernden Gewichtsverlust aufzuweisen. Ferner sei gleich hier noch hervorgehoben, dass bei dem Meer-

schweinchen Nr. 73, von dem die letzten Thiere geimpft waren, im Blut, wie in den Exsudaten der Bauch- und Brusthöhle Cholerabacterien in Reincultur sowohl durch das Plattenverfahren, wie durch Ausstriche auf Agar und mikroskopische Untersuchung der Colonien, und zwar in nicht geringerer Menge als gewöhnlich, nachgewiesen wurden. Es ist bei Erwähnung der Colonien in meinen Versuchsprotokollen bemerkt, dieselben, und zwar die auf den Agarröhrchen, seien wesentlich kleiner als gewöhnlich gewesen. Aus dieser Bemerkung irgend welche Schlüsse auf ein verändertes biologisches Verhalten dieser Kommabacillen auf unseren künstlichen Nährböden zu ziehen, wäre gewiss um so weniger angebracht, als andere Versuche mit demselben Material, die einen Tag später angestellt wurden, überall auf den gebräuchlichen Nährböden typische Wachsthumsverhältnisse ergaben und auch die Impfung der Bouillonculturen auf Meerschweinchen intraperitoneal erkennen liessen, dass, wie im Anfange der Versuche 3,0 ccm zur Tödtung der Thiere eben ausreichten.

Die Versuchsthiere waren nach Möglichkeit so gewählt, dass ihre Gewichtsverhältnisse einigermassen übereinstimmten. Schon aus diesem Grunde mussten kleinere Thiere genommen werden, da solche immer in grösserer Anzahl zu haben sind. Trotzdem ist eine völlige Uebereinstimmung, auch wenn man geringere Schwankungen abrechnet, nicht erreicht, und sind besonders die schweren Thiere vom 28. XI. sehr störend. Später konnte die Uebereinstimmung im Gewicht der Versuchsthiere etwas besser gewahrt werden.

Wir sehen also, dass am 19. XI. 92 eine Menge der Bauchhöhlenflüssigkeit eines an intraperitonealer Cholerainfection gestorbenen Meerschweinchens von 0,5 ccm den Tod eines neuen Versuchsthieres herbeiführt, dass die Temperatur dieses Thieres innerhalb der nächsten sechs Stunden um 0,8° C. absinkt; dass 0,1 ccm derselben Flüssigkeit den Tod eines anderen Thieres nicht herbeizuführen vermag und dass sich bei diesem nach sechs Stunden eine Erniedrigung der Eigenwärme um 0,5° C. eingestellt hat, die nach 19 Stunden auf 1,0° C. gestiegen und am Abend, nach 29 Stunden, noch nicht ganz ausgeglichen ist.

In den nächsten Tagen lässt sich eine nicht gleichmässig fortschreitende Zunahme der Giftigkeit des Impfmaterials dadurch erkennen, dass die Temperaturerniedrigungen nach sechs Stunden wesentlich höhere sind, am 26. XI. z. B. bei Thier Nr. 16 nach vier Stunden schon 1,9° C., nach acht Stunden 2,2° C.; bei Thier Nr. 17 nach vier Stunden 0,8° C., nach acht Stunden 3,4° C. Es ist sehr wahrscheinlich, dass ähnliche Herabsetzungen der Temperatur bei den früheren Thieren ebenfalls eingetreten sind, aber zu einer späteren Zeit, wo sie nicht beobachtet werden konnten; daraus wäre zu schliessen, dass jetzt dieselbe Erscheinung wesentlich früher eintritt. Und das können wir uns, vorausgesetzt, dass es sich um dieselben Dosen des Giftstoffes handelt, eben nur aus einer Virulenzzunahme erklären. Weiter stellt es sich nun heraus, dass im Laufe der Zeit immer kleinere Dosen, weit unter denen liegend, die zunächst eben tödtlich waren, genügen, die Versuchsthiere unter denselben Erscheinungen eingehen zu lassen. Am 26. XI. genügen 0,1 ccm, am 30. XI. weniger als 0,05 ccm, am 4. und 5. XII. sogar 0,01 ccm. Nähmen wir die Gabe von 0,5 ccm, die am ersten Tage den Tod herbeiführte, als tödtliche Minimaldosis an — was nicht ganz richtig sein wird, da wahrscheinlich auch Dosen zwischen 0,5 und 0,1 ccm schon damals den Tod herbeigeführt haben würden — so hätte sich also innerhalb 15 Tagen eine Herabminderung der zur Erzielung des Todes nöthigen Menge Bauchhöhlenflüssigkeit um das fünfzigfache ergeben. Jedenfalls aber kann man sagen, dass am 4. und 5. XII. der zehnte Theil einer am 19. XI. nicht tödtlichen Dosis Cholerabacillen mit Sicherheit den letalen Ausgang der bei den Thieren solchen Gewichtes erzeugten Krankheit herbeiführt.[1])

Wie soll man sich das erklären? Offenbar kann es sich dabei nur um zwei Dinge handeln: um eine Veränderung der

1) Es sei gleich hier erwähnt, dass die Veränderung des Giftstoffes, seine weit höhere Wirksamkeit, auch noch in der Thatsache ihren Ausdruck findet, dass Thiere mit nicht unbeträchtlichen Immunitätsgraden (gegen intraperitoneale Infection) auf Dosen eingehen, die sie von früheren Thieren mit weniger virulentem Material bereits gut vertragen hatten. (Siehe in der grossen Tabelle des 2. Abschnitts 4, 14 und 16.)

Quantität oder der Qualität des Giftes, welches in dem Impfmaterial oder, wie wir nach Pfeiffer's Untersuchungen[1]) annehmen wollen, in den Bacterienleibern, in den Kommabacillen selbst, enthalten ist. Man kann also nicht von vornherein sagen, die Kommabacillen seien giftiger geworden. Man müsste dazu zunächst den Beweis liefern, dass die Zahl derselben in einer gegebenen Menge Flüssigkeit während der ganzen Dauer des Versuches dieselbe bleibt und dass dieselben ganz gleichmässig in der Bauchhöhlenflüssigkeit vertheilt sind. Es könnte ja auch die oben erhaltene Steigerung dadurch zu Stande kommen, dass die Bacterien sich zunächst nur schwach, in späterer Zeit immer schneller in dem Thierkörper vermehren und dadurch die Dosen von Gift, welche man injicirt, wesentlich verschiedene in derselben Menge Flüssigkeit werden. Wir haben versucht, in einigen Fällen durch das Plattenverfahren eine Entscheidung hierüber zu erhalten, möchten aber nicht unterlassen, zu betonen, dass die Resultate, welche man mit demselben erhält, sehr wohl angefochten werden können. Durch das Plattenverfahren erhält man naturgemäss nur eine Uebersicht über die Zahl der vermehrungsfähigen Kommabacillen, mit dem Impfmaterial aber werden wahrscheinlich eine ganze Reihe nicht mehr sich in der Gelatine vermehrender und ferner durch den Thierkörper abgetödteter Mikroorganismen dem neuen Thiere einverleibt und die Wirkung beider, lebender oder todter Bacterien, ist, soviel wir bisher über Cholerabacterien wissen, nicht wesentlich verschieden. Die Wirkung dieser todten und der vermehrungsunfähigen Kommabacillen ist also für das Impfmaterial noch mit in Rechnung zu stellen. Diese Wirkung aber ist bis jetzt eine völlig unbekannte Grösse. Immerhin besitzen wir zur Zeit kein besseres Mittel zur Feststellung in solchen Dingen als das Plattenverfahren. Die wenigen daraufhin angestellten Untersuchungen, zu verschiedenen Zeiten während des Versuches unternommen, liessen nun eine irgendwie erhebliche

1) R. Pfeiffer, Untersuchungen über das Choleragift. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. XI, S. 393 ff.

Differenz sowohl zwischen verschiedenen Theilen desselben Exsudats, als auch zwischen den verschiedenen Perioden der Versuchszeit, in Bezug auf die Zahl der sich auf der Gelatine-Platte entwickelnden Keime nicht erkennen, und es neigt sich daher die Anschauung dahin, dass es sich in der That hierbei um eine Veränderung der Beschaffenheit, der Wirksamkeit des giftigen Stoffes innerhalb der Bacterienleiber, um eine zuerst auftretende Steigerung und dann folgende Schwächung ihrer specifischen Energie handelt. Dafür würde ja auch die Veränderung in dem zeitlichen Verlauf der Erscheinungen sprechen. In welcher Weise wir uns diese Qualitätsveränderung zu denken haben, darüber können Erklärungsversuche ja gemacht werden. Man könnte sich z. B. recht wohl vorstellen, dass von Anfang an auf das Protoplasma der Bacterien zwei Kräfte einwirken, die eine in dem Sinne, dass gewisse Bestandtheile des Zellenleibes eine Förderung erfahren (Steigerung der Virulenz), die andere so, dass andere Theile des Protoplasmas langsam und allmählich eine Schwächung erleiden, die aber erst nach längerer Zeit so gross wird, dass sie in die Erscheinung tritt. Indessen ist mit solchen Erklärungen wenig gewonnen, und es ist ohne praktischen Nutzen, solche Möglichkeiten weiter zu verfolgen.

Die Wirksamkeit des Impfmaterials nahm nun zwar zunächst wieder etwas ab, hielt sich aber dann längere Zeit auf der jetzt erreichten Höhe. Wir sehen am 13. und 14. XII. den Tod unter rapider Temperaturerniedrigung schon sehr bald eintreten auf Dosen von 0,05 ccm, und bis dahin stimmen die Versuche mit den bisher bekannt gewordenen überein. Am 20. XII. aber können wir bereits bemerken, dass die Herabsetzung der Temperatur wieder wesentlich langsamer erfolgt, am 21. XII. ist die Dosis von 0,05 ccm nicht mehr tödtlich für Thiere von demselben, sogar von etwas geringerem Gewicht und am 22. XII. kann bei einem Thiere von 170 g Gewicht durch 0,05 ccm nur noch eine geringe Temperatursteigerung, bei einem Thiere von 180 g Gewicht durch 0,1 ccm eine verhältnismässig geringe Temperaturerniedrigung erzielt werden, während Krankheits-

erscheinungen kaum sonst noch auftreten und auch bei der Gewichtsbestimmung der nächsten Tage der Nachweis einer überstandenen schweren Erkrankung nicht zu führen ist.

Es braucht nun kaum hervorgehoben zu werden, dass das erhaltene Resultat unverkennbar eine gewisse Analogie zeigt mit dem Verlaufe menschlicher Epidemien, besonders der Cholera; die anfängliche Zunahme der Krankheitserscheinungen, die Schnelligkeit des Verlaufes auf der Höhe der Virulenz, das Verharren auf diesem Zustand während einiger Zeit und die schliessliche Abnahme, ja vielleicht das völlige Erlöschen der krankmachenden Eigenschaften. Könnte nicht mancher geneigt sein, zu sagen, dass man ja bei unseren Choleraepidemien ganz dasselbe beobachte, dass in dieser Versuchsreihe eine neue Erklärung für das Erlöschen von Epidemien gegeben sei? Ausser der Durchseuchung und anderen, zum Theil unbekannten Factoren könne als ein neues Moment für die Analyse dieser auffallenden Erscheinung die in dieser Versuchsreihe sich aussprechende begrenzte Fähigkeit der Cholerabacterien, innerhalb derselben Thier-Species über längere Zeit ihre krankmachenden Eigenschaften zu bewahren, herangezogen werden? Ich glaube nicht, dass man aus dieser einen Beobachtung muthig so weit gehende Schlüsse wird ziehen dürfen. Es sind der Fehlerquellen bei derartigen Versuchen so viele, Zufälligkeiten der mannigfachsten Art können in irgend einer Weise auch bei der grössten Vorsicht ausschlaggebend werden, das Ausserachtlassen von Kleinigkeiten oder Bedingungen, von deren Wirkung wir vielleicht vorläufig noch gar nichts wissen, können die Resultate in der bedeutendsten Weise beeinflussen. So wäre man vielleicht, um nur ein Beispiel vorzuführen, zu ganz anderen Ergebnissen gelangt, wenn die Abnahme des Impfmaterials nicht ganz regellos einmal von dem stärker, das andere Mal dem schwächer vergifteten Thiere erfolgt wäre, sondern immer gleichmässig entweder nur von dem mit grossen Dosen oder nur von dem mit kleinen Dosen vergifteten. Ich mache mir auch gar keine Illusionen darüber, dass bei der Injection zuweilen Spuren des Impfmaterials nicht in den Thierkörper gelangt sind und was dergleichen Dinge mehr sind. Immer-

hin ist das Bestreben gewesen, solche Vorkommnisse nach Möglichkeit auszuschliessen, und wo trotzdem ein derartiger Zufall eintrat, ist es vermerkt worden. Es ist nicht ganz unnöthig, noch besonders zu erwähnen, dass die zur Einspritzung verwandten Instrumente stets dieselben waren.

Dasjenige, was meiner Ueberzeugung nach am wesentlichsten in dem oben angedeuteten Sinne einer Aehnlichkeit mit dem Verlauf menschlicher Epidemien spricht, ist nicht der tödtliche oder nicht tödtliche Ausgang der einzelnen Thierversuche, sondern der eigenthümlich verschiedene Verlauf der Temperaturerniedrigung bei den Thieren zu den verschiedenen Zeiten des Versuchs. In einer Curve dargestellt, haben wir ein ziemlich schnelles Ansteigen von einer geringeren Schnelligkeit des Eintretens und des Verlaufs der subnormalen Wärmegrade bis zu einer ziemlich beträchtlichen Höhe, dann ein geringes Absinken, ein Halten auf dieser nun erreichten Höhe und schliesslich ein nicht zu allmähliches Abfallen bis zu etwa dem status quo ante. Bei der Feststellung dieser Thatsachen der Temperatursenkungen sind Irrthümer wohl am ersten ausgeschlossen, da das Thermometer sich nicht beeinflussen lässt; es ist die grösste Sorgfalt gerade bei diesen Messungen beobachtet worden und die Erscheinung so verhältnismässig regelmässig verlaufen, dass dabei wohl an einen blossen Zufall nicht gedacht werden kann.

II. Versuche, die Immunität gegen intraperitoneale Cholerainfection zu steigern.

Bei allen Experimenten, welche angestellt werden, um Thieren einen Schutz gegen irgend eine Bacterienart zu verleihen, für welche sie empfänglich sind, spielt die Frage nach dem besten und leichtesten Wege, auf welchem die »Anfangsimmunität« zu erzielen sei, eine wichtige Rolle und man hat gesehen, dass gerade dieser erste Schritt bei manchen Erkrankungen nur bei Anwendung äusserster Vorsichtsmassregeln gethan werden kann. Das ist nun bei unserer intraperitonealen Choleraintoxication durchaus nicht der Fall. Nichts

kann leichter sein, als einem Meerschweinchen einen gewissen Schutzgrad gegen Choleraintoxication von der Bauchhöhle aus zu verleihen. Man braucht bloss, wie ja längst bekannt ist, Bouillonculturen zu erwärmen auf über 60° C. und dieselben dann filtrirt oder unfiltrirt in nicht zu grossen Dosen einzuverleiben, oder man spritzt lebende Culturen in Bouillon oder vom Agar in nicht tödtlichen Dosen ein, man überträgt von dem Blutserum etwas höher immunisirter Thiere; man entnimmt mit Choleraculturen getödteten Meerschweinchen entsprechende Mengen der Bauchhöhlen- oder weit grössere der Brusthöhlenflüssigkeit, oder man lässt das peritoneale Exsudat mit Wasser 1 : 10 verdünnt 24 Stunden bei Brüttemperatur stehen und spritzt dann von dieser Flüssigkeit verhältnismäsig grosse Mengen ein. In allen diesen Fällen sieht man nur eine geringe Herabsetzung bezw. eine anfängliche Erhöhung mit nach folgender Herabsetzung der Eigenwärme, die sich aber meist bald, schon nach 6 Stunden, wieder auszugleichen beginnt, eintreten und wenn man diese Thiere nachher mit für Controlthiere tödtlichen Dosen Choleraculturen einspritzt, so zeigen sie geringere Krankheitserscheinungen und bleiben am Leben. Es gibt noch eine Reihe anderer sogenannter »Methoden« der Gewinnung einer Anfangsimmunität in dem vorliegenden Falle; die oben erwähnten waren zunächst die einzigen, deren wir uns bedient haben. Die zuerst von Klein[1]) beschriebene Art der Gewinnung der Anfangsimmunität wird noch später bei der Frage nach der specifischen Bedeutung der intraperitonealen Choleraimpfung zu besprechen sein.

Eine wichtige Frage bei jeder Steigerung einer Immunität ist es dann weiter, in welchen Zeitintervallen man die steigenden Dosen einspritzen soll, wie viel Tage von der letzten bis zur nächsten höheren Einspritzung am besten liegen sollen.

Wir wissen aus den Untersuchungen anderer Forscher, dass die Immunität bei der intraperitonealen Choleravergiftung sehr schnell

---

1) Klein, Die Anticholeravaccination. Centralbl. f. Bact. u. Parasitenk., 1893, S. 426.

eintritt, dass man also der ersten schützenden Injection die tödtliche Dosis schon nach wenigen Stunden folgen lassen kann, ohne die Versuchsthiere zu verlieren. In unseren Versuchen ist in den meisten Fällen ein weit grösserer Zwischenraum, meist etwa 3 Wochen, zwischen die einzelnen Impfungen gelegt, besonders immer bei den Thieren, die höhere Dosen erhalten hatten, in der Absicht, die Thiere ihr früheres Gewicht erst wieder gewinnen und etwas überschreiten zu lassen und dem Körper Zeit zu geben, die bisher uns unbekannten Veränderungen seiner Säfte, welche wir als Ursache des Schutzes annehmen, auszubilden. Wissen wir doch aus den schönen Untersuchungen von Brieger und Ehrlich, dass, wenigstens beim Tetanus, die Wirksamkeit eines immunisirenden Serums zunächst nach der Einspritzung einer neuen Giftmenge erheblich abnimmt, um erst allmählich die alte Höhe wieder zu gewinnen, dann bis zu einer gewissen Zeit weit über dieselbe hinauszusteigen und endlich ganz allmählich wieder geringer zu werden. Natürlich wird man den Gipfel dieser Curve als den geeignetsten Augenblick zur Steigerung der Immunität wählen. Ob es sich mit der Choleraintoxication gerade so verhält, ist ja besonders nach der eben erwähnten Beobachtung, dass die Immunität sehr schnell eintritt, äusserst fraglich. Jedenfalls glauben wir bei unseren Versuchen mit diesen längeren Intervallen keine schlechteren, sondern eher günstigere Ergebnisse gehabt zu haben, als bei den auch angewendeten kürzeren, bei schnellerer Aufeinanderfolge der einzelnen Impfungen. Dafür einige Thierversuche als Beispiele:

Nr.	Gewicht	Datum	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach				
					2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.
1	450 g	30. I. 93	1/8 Ch. Ag. C. 24 St. alt i. p.	38,4	38,6	37,8	36,8	37,0	38,2
			Tödtl. Minimaldosis = 1/4 Ch. Ag. C.						
		2. II. 93	1/4 Ch. Ag. C. 24 St. alt i. p.	38,4	38,9	37,9	37,4	37,0	37,9
			Tödtl. Minimaldosis = 1/4 Ch. Ag. C.						
		4. II. 93	1/2 Ch. Ag. C. 24 St. alt i. p.	38,2	38,0	37,4	36,2	34,8	†
			Tödtl. Minimaldosis = 1/4 Ch. Ag. C.						

Nr.	Gewicht	Datum	Menge	Temp. vor d. Impf.	Temperatur nach				
					2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.
2	580 g	8. II. 93	1/10 Ch. Ag. C. 24 St. alt i. p.	38,3	38,8	38,2	37,9	37,2	37,6
			Tödtl. Minimaldosis der Cultur = 1/8 Ch. Ag C.						
		10.II. 93	1/6 Ch. Ag. C. 24 St. alt i. p.	38,7	38,4	38,0	37,4	36,9	37,9
			Tödtl. Minimaldosis der Cultur = 1/5 Ch. Ag. C.						
		11.II. 93	1/5 Ch. Ag. C. 24 St. alt i. p.	37,9	37,8	37,5	36,2	35,0	†
			Tödtl. Minimaldosis der Cultur = 1/5 Ch. Ag. C.						
3	410 g	30. I. 93	1/8 Ch. Ag. C. 24 St. alt i. p.	38,3	38,4	37,6	36,6	36,8	37,8
			Tödtl. Minimaldosis = 1/4 Ch. Ag. C.						
		4. II. 93	1/4 Ch. Ag. C. 24 St. alt i. p.	38,4	38,0	37,8	37,4	37,0	37,4
			Tödtl. Minimaldosis = 1/4 Ch. Ag. C.						
		10.II. 93	1/2 Ch. Ag. C. 24 St. alt i. p.	38,8	38,0	37,0	36,2	36,5	37,9
			Tödtl. Minimaldosis = 1/4 Ch Ag. C						
		12 II. 93	1/2 Ch. Ag. C. 24St. alt i. p.	38,5	37,9	37,0	36,0	34,2	†
			Tödtl. Minimaldosis = 1/4 Ch. Ag. C.						

Schon aus diesen wenigen Versuchen geht hervor, dass die Thiere die rasch wiederholten Einspritzungen meist schlecht vertragen. Aus einer etwas grösseren Zahl ebensolcher späterer Versuche, die zum Theil zu anderen Zwecken angestellt wurden, kann ich bestätigen, dass die Thiere alle sehr bald, meist bei der dritten oder vierten Impfung eingehen. Die in längeren Zwischenräumen geimpften Thiere sterben zwar, wie sich zeigen wird, auch alle, aber meist nicht nach so wenigen Impfungen; man kann daher bedeutend höhere Widerstandsfähigkeit bei ihnen erzielen.

Zu gross andererseits darf man die Intervalle auch nicht werden lassen; es machte wiederholt den Eindruck, dass Zwischenzeiten von 4 Wochen und mehr entschieden ungünstigere Resultate gaben, als die von ca. 3 Wochen.

Um wieviel soll die folgende Dosis der vorhergehenden überlegen sein? Auch hierin muss man ausprobiren, es lassen sich bestimmte Angaben für jeden einzelnen Fall kaum geben; die Thiere reagiren auch durchaus nicht in gleicher Weise auf dieselbe Steigerung der Dosis. Im Allgemeinen haben wir die Verdoppelung bei den Anfangsgraden, die

Hinzufügung eines Drittels bzw. eines Viertels der vorhergehenden Dosis bei schon öfter injicirten Thieren geübt.

In einer Reihe von Fällen, so lange der oben beschriebene Versuch der Virulenzsteigerung im Gange war, also vom 19. XI. bis 22. XII. 92, ist als Impfmaterial die Bauchhöhlenflüssigkeit der gestorbenen Meerschweinchen genommen worden, und es können also die in der obigen Versuchsreihe beschriebenen 76 Thiere in beschränkter Weise während dieser Zeit als Controlthiere dienen. Dabei muss man allerdings dann den guten Glauben in vielen Fällen mitbringen, dass der Virulenzgrad der Bauchhöhlenflüssigkeit der beiden an einem Tage gestorbenen Thiere genau der gleiche gewesen sei. In einigen wenigen Versuchen, die in dieser Richtung angestellt sind und die nicht weiter mitgetheilt zu werden brauchen, ergab sich in der That eine völlige Uebereinstimmung in Bezug auf die Höhe der tödtlichen Dosis und in Bezug auf den Temperaturverlauf. Aber diese Prüfungen sind, wie gesagt, nur selten vorgenommen, und es ist möglich, dass nicht zu allen Zeiten eine gänzliche Virulenzgleichheit zwischen den Exsudaten der beiden Thiere geherrscht hat. Auch an den Gewichtsunterschied zwischen den als Controlthiere dienenden und den zu immunisirenden Thieren ist zu denken.

In späterer Zeit, nach dem 22. XII., sind nur noch 24stündige, bei 37,5 bis 37,8° C. gezüchtete Agarculturen verwandt worden. Es wurde mit einer Oese kurz vor der Impfung der Bacterienrasen abgekratzt, eine Spur auf 35° C. erkalteten, frisch sterilisirten, destillirten Wassers dem Condenswasser hinzugefügt und diese Bacterien-Flüssigkeit nach tüchtigem Umschütteln und nachdem alles Bacterienmaterial sich nach Möglichkeit gelöst hatte, über den ausgeglühten, aber kalten Rand des Röhrchens in sterile Doppelschälchen gegossen, mit einer zweiten kleinen Menge sterilen Wassers der Rest des Bacterienmaterials nachgeholt und von hier mit der Spritze in der gewünschten Menge übertragen. Dass bei dieser Art der Dosirung eine wirkliche Uebereinstimmung in Bezug auf die Menge des übertragenen Giftes nicht vorhanden war, darüber hat niemals eine Täuschung bestanden. So gut es

ging, suchte man durch Auswahl genau gleich voluminöser Röhrchen, die genau die gleiche Menge in derselben Neigung erstarrten Agars enthielten und durch Einhalten stets derselben Zeitdauer vom Moment der Impfung bis zu dem Abkratzen des Bacterienmaterials, sowie dadurch, dass die Impfung der Röhrchen stets von derselben Person von 24 Stunden alten Agarröhrchen (37° C.) vorgenommen wurde, die Fehlerquellen zu verringern.

Es mögen nun die Protokolle der Thierversuche zur Steigerung der Immunität folgen. (Siehe Tafel I und II.)

Bei Besprechung der in dieser Tabelle mitgetheilten Versuchsergebnisse muss zunächst die Virulenz der angewandten Choleracultur noch einmal berücksichtigt werden. Wie aus den zu Anfang der Arbeit mitgetheilten Versuchen hervorging, hatte die Cholera »Frohnert« unmittelbar nach der Isolirung der Cultur in 24 stündigen Bouillonröhrchen (II. Gener.) eine Virulenz, die etwa 3,0 ccm als tödtlicher Minimaldosis für Thiere von 400 g entsprach. Agarculturen wurden damals nicht geprüft, sondern erst nach 14 Tagen, als durch 3,0 ccm Bouilloncultur kaum eine vorübergehende Temperatursteigerung mehr hervorgerufen wurde. Die tödtliche Minimaldosis betrug damals eine Oese ($1\frac{1}{2}$ mg = $\frac{1}{15}$ Ag.C.) 24 stündiger Agarcultur, der Tod des Meerschweinchens trat, wie erinnerlich, auf diese Dosis erst nach etwa zweimal 24 Stunden ein. Als die Immunisirungsversuche begannen, hatte die Virulenz weiter schon nicht unerheblich abgenommen. Am 26. IX. 92 ist die tödtliche Minimaldosis für ein Meerschweinchen von 430 g Gewicht gleich 5,0 ccm 24 stündiger Bouilloncultur, am 18. XI. dagegen hat die Virulenz wieder zugenommen, ohne dass die verwandte Cultur inzwischen den Thierkörper passirt hatte; ein Thier von 530 g stirbt innerhalb 20 Stunden an 3,0 ccm. Hier ist der Ort zu erwähnen, dass die zur Infection gebrauchten Culturen in fortlaufender Reihe von einem Nährboden auf den anderen übertragen worden sind, Bouillon- wie Agarculturen, ohne dass durch eine Passage des Meerschweinchenkörpers die Virulenz zu erhöhen versucht wurde. Es geschah dies absichtlich, um kennen zu lernen, in welcher Weise die Aenderungen der Virulenz

bei einer länger fortgezüchteten Cultur vor sich gehen. Die Uebertragung geschah täglich mindestens einmal. Es besteht keine Täuschung darüber, dass durch diese Versuchsanordnung die Resultate, besonders bei der Steigerung der Immunität, vielleicht sogar in hohem Grade, nachtheilig beeinflusst sind. Andererseits war es nicht ohne Interesse, die ausserordentlichen Schwankungen in der Giftigkeit der Culturen zu beobachten. Wie aus den Dosen ersichtlich ist, an denen die Controlthiere eingegangen sind, war die tödtliche Minimaldosis für Thiere etwa im Gewicht von 400 bis 500 g am 12. I. 93 gleich $^1/_{10}$ Agarcultur von 24 Stunden Wachsthum, also etwa $^2/_3$ der zu Beginn der Versuche bestehenden Toxicität. Am 14. und 18. I. ist sie gleich $^1/_8$, am 19. gleich $^1/_9$ Agarcultur, am 2. und 14. II. = $^1/_6$, am 23. II. noch $^1/_5$ der Agarcultur. Am 3. III. geht das Controlthier auf $^1/_{10}$, am 15. III. auf $^1/_4$, am 22. desselben Monats wieder auf $^1/_{10}$ Agarcultur ein. Am 5. IV. ist die tödtliche Minimaldosis wieder gleich $^1/_4$, am 26. IV. gleich $^1/_5$; am 3. VI. tödtet $^1/_3$, am 21. VI. $^1/_2$ Agarcultur die Controlthiere, und diese hohen Dosen sind auch in späteren Versuchen mindestens erforderlich. Im Allgemeinen also zeigt die Virulenz der Cultur eine stetige Abnahme mit Ausnahme einer Steigerung im März. Man könnte vielleicht geneigt sein, diese plötzliche Zunahme der Giftigkeit auf einen Versuchsfehler zurückzuführen, und es wäre das auch für mich die nächstliegende Erklärung, wenn mir nicht auch sonst bei anderen Versuchen häufig genug derartige Aenderungen in der Virulenz von Choleraculturen begegnet wären. Es ist leider oft genug beobachtet worden, dass Choleraculturen, deren Toxicität heute bestimmt war, nach 24 Stunden in der ersten nachfolgenden Generation eine erhebliche Steigerung, zuweilen auch eine erhebliche Abnahme ihrer Giftigkeit zeigten, so dass die auf den Controlversuch vom vorhergehenden Tage basirte Dosirung sich als viel zu hoch oder niedrig herausstellte. Diese unvorherzusehenden bedeutenden Schwankungen in der Toxicität der Choleraculturen sind der Umstand, welcher am meisten erschwerend für Versuche der Immunitätssteigerung in's Gewicht fällt, und man merkt hier, was es für eine angenehme Sache ist,

wenn man mit einem einigermassen in seiner Virulenz constanten Material solche Fragen bearbeiten kann.

Aus den mitgetheilten Messungen der Eigenwärme lässt sich zunächst ersehen, dass die Temperaturcurve unter Umständen ganz ausserordentlich tief sinken kann. Temperaturen von 25° C. sind oft beobachtet worden, in einzelnen Fällen sogar solche, die weit unter 20° liegen. Ferner ist im Ganzen ein deutlicher Unterschied erkennbar zwischen schon geimpften und noch nicht geimpften Thieren. Während die letzteren meist schon nach zwei Stunden, stets nach vier Stunden eine deutliche Herabsetzung ihrer Eigenwärme zeigen, sieht man bei schon geimpften Thieren, falls die Dosis nicht zu hoch gegriffen war, also gut vertragen wird, nichts als eine deutliche Steigerung der Temperatur um 1 bis 2° C., die nach zwei Stunden schon erkennbar ist und meist nach sechs bis acht Stunden der normalen Körperwärme Platz macht. Ob bei diesen Thieren eine sich schnell wieder ausgleichende Herabsetzung der Eigenwärme der Steigerung, die nach zwei Stunden nachweisbar ist, vorhergeht, sind wir ausser Stande anzugeben, da frühere Messungen als nach zwei Stunden nicht vorgenommen sind, halten es aber durchaus nicht für ausgeschlossen. Ist dagegen die Dosis zu hoch gegriffen, so dass die Thiere eingehen oder erst nach langem Kranksein und andauernder fortschreitender Gewichtsabnahme allmählich sich wieder erholen, so tritt auch wohl nach zwei Stunden eine geringe Steigerung der Temperatur ein; dieselbe verschwindet aber meist sehr schnell wieder, es folgt eine sehr regelmässige Herabsetzung der Körperwärme, die entweder schnell zum Tode führt oder längere Zeit bestehend, so dass sie noch nach 29 Stunden nachweisbar ist, nur langsam wieder zur Norm zurückkehrt. Immerhin sind die Verhältnisse bei unseren Messungen nicht so deutlich unterscheidbare, dass man daraus einen gesetzmässigen Unterschied zu construiren vermöchte.

Ausser in der Herabsetzung der Eigenwärme äussert sich die Wirkung des mit der intraperitonealen Injection gesetzten Eingriffs fast nur noch in einem einigermassen constant wiederkehrenden Gewichtsverlust. Aber auch hier lässt sich irgend

eine gesetzmässige, von dem Gewicht des Thieres und der Höhe der gewählten Dosis abhängige und derselben proportionale Veränderung nicht beobachten. Es kommt vor, dass Thiere überhaupt nach dem Eingriff keine Herabsetzung ihres Gewichtes zeigen, sondern in der ganzen folgenden Zeit, schon vom nächsten Tage an, nicht unbeträchtlich an Gewicht zunehmen, ohne dass man dafür in allen Fällen besondere Verhältnisse, wie Gravidität, verantwortlich machen könnte; eine Herabsetzung der Eigenwärme ist dann allerdings fast niemals nach der Zuführung der Bacterien zu constatiren gewesen oder dieselbe war nur äusserst gering. In der grossen Mehrzahl der Fälle ist, wie schon einmal erwähnt wurde, eine deutliche, über mehrere Tage anhaltende, fortschreitende Gewichtsabnahme bemerklich, die allerdings in den weitesten Grenzen schwankt und von wenigen Gramm bis zu einem halben Pfund beobachtet worden ist. Auch die Zeit bis zur Erreichung des Mindestgewichts und damit auch die, welche bis zur Gewinnung der alten Schwere verstrich, war ausserordentlich verschieden. Im Allgemeinen kann man sagen, dass die höheren Dosen einen wesentlich höheren Gewichtsverlust im Gefolge hatten und längere Zeit bis zum status quo ante gebrauchten. Einige Male hatte man den Eindruck, als ob weniger die Steigerung der Dosis, als überhaupt die Wiederholung der Injection für sich allein den stärkeren Effect hervorzubringen vermöchte.

Die Höhe der erzielten Immunität war zunächst verschieden je nach Art der Vorbehandlung. Diejenigen Thiere haben den höchsten Schutz gegen die intraperitoneale Cholerainfection erreicht, welche zuerst nur mit direct von getödteten Thieren stammendem Material, Bauchhöhlenflüssigkeit u. s. w., geimpft waren oder auf welche Serum von immunisirten Thieren übertragen war. Die auf andere Weise vorbehandelten Thiere sind im Allgemeinen wesentlich früher einer erneuten Einspritzung erlegen. Eine Erscheinung fällt bei genauerer Betrachtung der Tabelle besonders in's Auge, dass nämlich häufig genug Thiere eine geringere oder dieselbe Höhe, dasselbe Multiplum der für Controlthiere tödtlichen Minimaldosis bei der zweiten Einspritzung

schlechter vertragen, als bei der vorhergehenden. Diese Erscheinung, die in der letzten Zeit der Versuchsdauer besonders hervortritt, kann natürlich zunächst aus einer falsch gewählten Zeit der nachfolgenden Einspritzung erklärt werden, und zu dieser Erklärung wird man um so eher geneigt sein, wenn man mit Ueberzeugung an der Anschauung hängt, dass man zur Steigerung der Immunität gegen intraperitoneale Cholerainfection die ersten Tage nach der Einspritzung wählen müsse. Aus den mitgetheilten Versuchen scheint mir jedoch bewiesen, dass Zwischenräume zwischen den einzelnen Impfungen, wie sie hier gewählt wurden, im Allgemeinen besser geeignet zur Erreichung höherer Schutzgrade erscheinen, und mir scheinen daher ausser der eben erwähnten noch zwei weitere Möglichkeiten vorzuliegen. Entweder ist die Abnahme der Virulenz der Cholerabacterien, wie sie gerade während dieses Zeitpunktes der Versuchsdauer auftritt, an dem Zustandekommen dieser Erscheinung betheiligt, derart, dass mit den kaum noch virulenten Bacterienleibern eben ganz andere chemische Körper einverleibt werden als früher, oder die verwendete Thierspecies ist nach einer gewissen Inanspruchnahme ihrer Körpersäfte durch wiederholte Impfungen nicht mehr im Stande, in der bisherigen Weise zu »reagiren«; es tritt eine Grenze der Immunitätssteigerung gegen intraperitoneale Injection bei ihnen in die Erscheinung. Die letztere Möglichkeit ist bereits von Sobernheim[1]) betont worden. Es ist mir nicht möglich, irgendwie zu einer Entscheidung in diesem Zwiespalt beizutragen, doch möchte ich hervorheben, dass in einzelnen Fällen jedenfalls höhere Immunitätsgrade zu erzielen sind, als dies von Sobernheim angenommen zu werden scheint. Folgende Thiere aus der oben mitgetheilten Reihe haben doch recht beträchtliche Multipla der für Controlthiere tödtlichen Minimaldosis ertragen: Nr. 6 das zehnfache bei der vorletzten, das siebenundeinhalbfache bei der letzten intraperitonealen Impfung; Nr. 12 das zwölffache bei der letzten Impfung; Nr. 19 das

1) Sobernheim, Experimentelle Untersuchungen über Choleragift und Choleraschutz. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., 1893, Bd. XIV, S. 3.

neunfache, Nr. 20 und 22 das achtfache, Nr. 24 das zehnfache, Nr. 23, 30, 32, 33, 36, 40 das fünffache, Nr. 42 das siebenundeinhalbfache, Nr. 25 das sechzehnfache der tödtlichen Dosis. Allerdings ist zur Gewinnung derartiger Resultate der Verlust an Thiermaterial ein ganz enormer, und es wird schon aus diesem Grund nicht viele Experimentatoren geben, die in dieser Richtung weitere Choleraimmunisirungsversuche anzustellen geneigt bzw. in der Lage sind.

Der springende Punkt bei diesen Immunisirungsversuchen ist natürlich die Beantwortung der Frage, ob es gelingt, auf dem Wege der intraperitonealen Cholerainfection einen Schutz gegen die Impfung vom Magen aus nach Koch-scher Methode zu erzielen. Wir müssen diese Frage nach unseren Erfahrungen ganz entschieden verneinen. Thiere, welche das fünf- ja das sechszehnfache der tödtlichen Dosis anstandslos vertragen hatten, deren Bauchhöhle während vieler Monate mit unglaublichen Mengen von Cholerabacterien immer wieder überschwemmt worden war, gingen nach der ersten, bzw. zweiten, aber nicht stärkeren Cholerainfection vom Magen aus immer in typischer Weise mit dem bekannten pathologisch-anatomischen Befund zu Grunde, auch dann, wenn die Controlthiere am Leben blieben, und weder die Erscheinungen während des Lebens nach der Impfung, noch die Autopsie liessen irgend einen Unterschied in dem Verhalten dieser Thiere gegenüber den Kontrollthieren, nicht einmal eine Verzögerung des letalen Ausganges um eine bemerkenswerthe Zeitspanne erkennen.

Der Befund bei den immunisirten Thieren unterschied sich nicht wesentlich von dem bekannten pathologisch-anatomischen Bilde bei nicht vorbehandelten. Häufig genug fanden sich die Reste der vorausgegangenen Entzündungen, Stränge und Adhäsionen, in der Bauchhöhle vor, auch schien es zuweilen, als wenn die letale Einspritzung local weniger heftige Erscheinungen, inbesondere kaum einen bemerkenswerthen Belag auf Leber, Milz und Därmen, erzeugt habe. Aber auch dieser Unterschied

war durchaus nicht regelmässig. Der bacteriologische Befund stimmte immer gut mit demjenigen überein, den andere Autoren zur Genüge beschrieben haben: bei den höher immunisirten Thieren fand sich in einer Oese Herzblut mit geringen Ausnahmen ein spärliches Bacterienmaterial, etwa 10—30 vermehrungsfähige Keime, während die Bauchhöhlenflüssigkeit, in derselben Menge, zum Unterschied von den Controlthieren meist weniger zahlreiche, aber immer noch nicht wenig Keime auswachsen liess. Bei den Controlthieren fanden sich im Allgemeinen in einer Oese aus der Bauchhöhle immer zahllose, aus dem Herzen zählbare, zwischen sechzig bis über zweihundert wechselnde Choleracolonien. Dabei ist zu beachten, dass die Dosis, an welcher diese Controlthiere eingingen, in allen Fällen die Minimaldosis war.

Das Blutserum von Meerschweinchen, die mit steigenden Choleradosen intraperitoneal behandelt waren, ist nur in seltenen Fällen geprüft worden. Zu diesen Versuchen benutzte Thiere sind zwar zum Theil schon in der vorigen Tabelle enthalten, doch sollen dieselben übersichtshalber hier noch einmal mit den nicht erwähnten zusammengestellt werden. Dem Thier Nr. 7 der grossen Tabelle wurde am 6. XI. Abends 6,0 ccm Blut aus der Halsvene entnommen und auf Eis gelegt. Mit dem abgeschiedenen Serum wurden folgende Versuche angestellt:

Nr.	Gewicht	Menge Serum	Temp. vor d. Inject.	Injection von (nach 24 Stdn.)	Temperatur nach			
					2 Std.	4 Std.	6 Std.	8 Std.
1	550 g	0,1 ccm	38,2	0,1 ccm B. Fl. eines eben gestorb. Meerschw.	39,4	38,6	38,8	38,4
2	605 „	0,5 ccm	38,5	„ „	40,2	39,3	38,5	38,6
3	527 „	1,0 ccm	38,6	„ „	37,4	38,1	38,4	38,3
4	530 „	— Controlthier	38,2	„ „	39,1	38,3	37,1	34,5 †

Thier Nr. 4 wird nach Verlauf von 17 Stunden nach der Einspritzung todt gefunden. Thier Nr. 3 erträgt schon am Tag nach

dieser ersten Einspritzung ganz ausserordentlich stärkere Dosen Choleramaterial, während die beiden anderen Meerschweinchen längere Zeit brauchen, ihr ursprüngliches Gewicht wieder zu gewinnen: das mit 0,1 ccm vorbehandelte über zwei Monate, das mit 0,5 ccm vorbehandelte fünf Tage. Das Thier Nr. 7, dem das Blutserum entstammte, hatte nur einmal, acht Tage vor der Blutentnahme die tödtliche Dosis überstanden. Von einer Beeinflussung des Verlaufes der Infection durch Einspritzung dieses Serums einige Zeit nach der Verimpfung des tödtlichen Materials konnte dagegen keine Rede sein:

Nr.	Gewicht	Einspritzung von	Temp. nach		dann Serum	Temp. nach		Ausgang
			1 Std.	3 Std.		5 Std.	7 Std.	
1	235 g	0,1 ccm B. Fl. eines gestorb. Meerschw.	39,4	38,4	0,1 ccm	37,2	32,0	† nach 8—17 St.
2	250 „	„ „	39,0	37,5	1,0 ccm	37,9	32,5	do.
3	230 „	„ „	39,1	38,3	— Controlthier	38,1	34,3	do.

Eine geringe Beeinflussung auf den Gang der Temperatur lässt sich nur bei Thier 2 erkennen, während im Uebrigen kaum ein Unterschied zu verzeichnen ist.

Thier Nr. 7 stirbt, wie aus der Tabelle ersichtlich, am 4. XII. in Folge erneuter Impfung. In den Pleurahöhlen dieses Thieres finden sich 5 ccm völlig klaren, bacterienfreien Serums — das Thier starb drei Tage nach der Impfung, daher sind keine Bacterien mehr vorhanden — und dieses Serum wurde ebenfalls auf seine Immunisirungsfähigkeit geprüft. (Folgt Tabelle auf Seite 74 oben.)

Das Controlthier stirbt während der Nacht, die beiden anderen Thiere zeigen nicht die geringsten Erscheinungen mehr am folgenden Tage. Das bei der Obduction erhaltene Blutserum hatte also in diesem Falle genau dieselben Eigenschaften in Bezug auf Immunisirungsfähigkeit gegen Cholera, wie das einige Tage vorher von dem lebenden Thiere erhaltene.

Nr.	Gewicht	Temp. vor d. Inject.	Menge	Nach 1 Stunde	Temperatur nach			
					2 Std.	4 Std.	6 Std.	8 Std.
1	360 g	38,2	0,1 ccm seröse Pl.-Flüssigkeit Thier 7	0,1 ccm Bauchhöhlenflüssigk. eines gestorb. Meerschw.	39,0	39,8	40,3	39,1
2	403 „	38,4	0,1 ccm B. Fl. eines gestorb. Meerschw.	4,0 ccm seröse Pl. Flüssigkeit von Thier 7	—	38,9	39,6	39,9
3	320 „	38,0	do.	— Controlthier	38,1	39,2	37,6	35,0

Noch von einem zweiten Meerschweinchen ist das Blutserum geprüft worden, nachdem das Thier durch wiederholte, gut überstandene, steigende Dosen von Cholerabacterienmaterial vorbehandelt war. Dem Thier Nr. 25 der grossen Tabelle werden am 30. XII. 92, nachdem es sechsmal tödtliche oder mehrfach tödtliche Dosen Choleramaterial überstanden hat, 6,0 ccm Blut aus der Carotis entzogen. Mit dem abgeschiedenen Serum werden am 7. I. 93 folgende Versuche angestellt:

Nr.	Gewicht	Temp. vor d. Inject.	Serum	Nach 2 Stunden	Temp. nach	
					3 Std.	5 Std.
1	344 „	38,2	1,0 ccm	5,0 ccm 5% Sodalösg.; 10,0 ccm 24 st. Bouilloncultur in den Magen; 1,5 Tinct. Op. simpl. i. p.	33,0	32,5 †
2	350 „	38,4	2,0 ccm	do. nur 5,0 ccm Cultur statt 10,0	35,4	35,8 †
3	340 „	38,1	— 1. Controlthier	wie bei 1	34,0	34,0 †
4	324 „	38,0	— 2. Controlthier	wie bei 2	28,0	†
5	290 „	37,9	0,1 ccm	4,5 mg Chol. Ag C. 24 Std. alt i. p.	38,1	38,0
6	400 „	38,5	0,01 ccm	do.	38,8	37,1
7	310 „	38,1	0,005 ccm	do.	38,3	36,8 †
8	380 „	38,4	— 3 Controlthier	3 mg, sonst wie Nr. 5	37,0	35,7 †

Von diesen Thieren wurden am nächsten Morgen todt gefunden, während sie ausser Nr. 4 nach acht Stunden nach der Impfung noch am Leben waren: Thier Nr. 1, 2, 3, 7 und 8. Die übrigen, Nr. 5 und 6, zeigten am nächsten Morgen normale Temperatur und hatten keinen Gewichtsverlust zu verzeichnen. Das Serum also, welches in ziemlich geringen Mengen — die Verdünnung wurde mit sterilem destillirtem Wasser vorgenommen — Meerschweinchen gegen die intraperitoneale Impfung zu schützen vermochte, blieb in bedeutend — um das 200fache — grösseren Dosen ohne jeden Einfluss auf die nach Koch'scher Methode vorgenommene Magenimpfung. Dieser Erfolg deckt sich völlig mit den schon oben mitgetheilten Erfahrungen.

Zugleich mit diesen Versuchen an Meerschweinchen wurde auch an einer kleinen Zahl von Kaninchen experimentirt, um zu versuchen, ob durch wiederholte intraperitoneale Injectionen bei diesen Thieren dem Blut derselben schützende Eigenschaften verliehen werden könnten. Es sei gestattet, von einem dieser Thiere die genauere Geschichte zu geben. Vorher sei bemerkt, dass Kaninchen ganz ungleich gegen diese Infection reagiren; dass es daher nicht angängig erscheint, zur Bestimmung der Virulenz des eingeimpften Materials Kaninchen als Controlthiere zu verwenden, — obgleich dies bei unseren Versuchen jedesmal auch geschehen ist —, dass man also besser thut, die betreffende, für Meerschweinchen tödtliche Minimaldosis als Kriterium für die Giftigkeit der verwandten Culturen heranzuziehen.

Ein Kaninchen von 1335 g Gewicht erhält am 19 XII. 92 als erste vorbehandelnde Impfung 0,1 ccm B.-Fl. eines vor wenigen Stunden an intraperitonealer Cholerainfection gestorbenen Meerschweinchens. Darauf sinkt die Temperatur des Thieres nach einer Stunde um 1,2° C., kehrt aber dann allmählich in vier Stunden wieder zur Norm zurück. Der Gewichtsverlust nach dieser Einspritzung beträgt 85 g. In der nächsten Zeit erhielt das Thier noch einmal am 12. I. 1 Chol.-Ag.-C., 24 Stunden alt, dann folgende Einspritzungen:

Am 16. I. 93 4 Chol. Ag. Culturen 24 Std. alt.
(Controlkaninchen 4 Culturen nach 1½ Tagen †
Controlmeerschweinchen (400 g) † auf ⅛ der Cultur.)

Am 19. I. 93 **6** Chol. Ag. Culturen 24 Std. alt.
(Tödtl. Dosis für Meerschweinchen (250 g) = 1/9 der Cultur.)
Am 28. I. 93 **6** Chol. Ag. Culturen 24 Std. alt
(Tödtl. Dosis für Meerschweinchen (250 g) = 1/9 der Cultur.)
Am 2. II. 93 **8** Chol. Ag. Culturen 24 Std. alt.
(Tödtl. Dosis für Meerschweinchen (408 g) = 1/6 der Cultur.)
Am 22. II 93 **10** Chol. Ag. Culturen 24 Std. alt.
(Tödtl. Dosis für Meerschweinchen (600 g) = 1/5 der Cultur.)
Am 28. III. 93 **10** Chol. Ag Culturen 24 Std. alt.
(Tödtl. Dosis für Meerschweinchen (580 g) = 1/4 der Cultur.)
Am 1. V. 93 **14** Chol. Ag Culturen 24 Std. alt.
(Tödtl. Dosis für Meerschweinchen (300 g) = 1/5 der Cultur.)
Am 24. V. 93 **18** Chol. Ag. Culturen 24 Std. alt.
(Tödtl. Dosis für Meerschweinchen (250 g) = 1/4 der Cultur.)
Am 14. VI. 93 **25** Chol. Ag. Culturen 24 Std. alt.
(Tödtl. Dosis für Meerschweinchen (310 g) = 1/2 der Cultur.)
Am 5. VII. 93 **34** Chol. Ag. Culturen 24 Std. alt.
(Tödtl. Dosis für Meerschweinchen (350 g) = 1/2 der Cultur.)

Bis dahin war mit der alten Frohnert'schen Cholera geimpft worden. Das Thier hatte meist einige Stunden nach der Impfung 1—2° C. Temperaturerniedrigung, die sich auffallend schnell wieder ausglich, gezeigt, hatte auch in den Tagen nach den Impfungen Gewichtsverlust, zuweilen recht beträchtlichen, gehabt, war aber immer wieder bald völlig munter und nahm stetig an Gewicht zu. Eine Steigerung der einzuspritzenden Mengen mit dieser nicht mehr virulenten Cultur erschien unthunlich; es wurde daher die virulenteste, mir damals zu Gebote stehende Choleracultur, eine Massauah-Cholera, zur weiteren Injection verwendet:

Am 25. VII. 93 **10** Chol. Ag. Culturen Massauah 24 Std alt i. p.
(Tödtl. Dosis für Meerschweinchen (500 g) = 1/20 der Cultur.)
(Weiteste Temperaturherabsetzung 2,4° C. nach 1 Std.)
Am 19. IX. 93 **15** Chol. Ag. Culturen Massauah 24 Std. alt i. p.
(Tödtl. Dosis für Meerschweinchen (450 g) = 1/15 der Cultur.)

Am 23. IX. 93 wird das Thier, das inzwischen sein Gewicht vom 10. IX. längst wieder überschritten hatte, überhaupt schon ganz munter und hergestellt erschienen war, in den zwei letzten Tagen aber ziemlich bedeutenden Gewichtsverlust bei einer geringen Erhöhung seiner Eigenwärme gezeigt hatte, Morgens todt im Stalle gefunden. Bei der Obduction werden die beiden Unterlappen der Lunge pneumonisch verdichtet gefunden und aus

denselben, sowie aus Herzblut, ein kleiner, in Haufen liegender Coccus gezüchtet, der nur bei Brüttemperatur wächst und eigenartige bläuliche, dem Nährboden fest anhaftende runde Colonien auf Agar bildet. In der Bauchhöhle ist ausser zahlreichen alten Verklebungen nichts Wesentliches von Veränderungen zu erkennen.

Aus der obigen Darstellung könnte man schliessen, dass Kaninchen sich sehr viel leichter gegen die intraperitoneale Cholerainfection immunisiren lassen, als Meerschweinchen. Das ist gewiss der Fall, aber so glatt, wie es nach dem Obigen den Anschein hat, geht der Process doch durchaus nicht in allen Fällen vor sich. Auch hier sind die Verluste an Thieren beträchtlich; das oben beschriebene Kaninchen ist das einzige von zehn Thieren, welches den Impfungen so lange Stand hielt. Alle anderen sind wesentlich früher entweder direct nach der Impfung eingegangen oder nach derselben einem langsam in Monaten zum Tode führenden Kranksein verfallen.

Blutentnahmen sind bei diesem erstbeschriebenen Thiere wiederholt vorgenommen, und zwar regelmässig aus der Randvene eines Ohres 10 ccm. Die mit dem abgeschiedenen Serum angestellten Versuche vom 10. VII. und 21. IX. 93 sollen genauer beschrieben werden. Das Blut zu dem erstgenannten Termin war am 5. VII. unmittelbar vor der letzten Einspritzung Frohnert'scher Cholera entnommen worden:

Nr.	Gewicht	Temp. vor d. Inject	Menge Serum	1 Std. später	Temperatur nach				Nächsten Morgen
					1 Std.	3 Std	5 Std.	7 Std.	
1	420 g	38,6	0,5 ccm	1/2 Chol. Ag. C. Massauah 24 St. alt i. p	38,9	37,6	37,2	37,4	38,8
2	372 „	38,7	0,1 „	do.	38,6	36,2	35,0	35,0	38,1
3	550 „	38,5	0,05 „	do.	38,6	37,0	35,8	35,5	39,2
4	379 „	38,7	0,01 „	do.	37,5	34,0	—	33,4	†
5	460 „	38,4	0,005 „	do.	37,9	36,0	—	35,1	†
6	411 „	38,4	0,001 „	do.	39,6	37,0	—	32,8	†
7	622 „	38,2	—	1/3 do.	37,6	34,2	—	33,1	†
8	670 „	38,5	—	1/4 do.	37,3	35,8	—	†	
9	710 „	38,5	—	1/5 do.	38,2	36,5	—	34,6	†

Gegen die etwa doppelte tödtliche Dosis schützt also 0,05 ccm des Blutserums dieses Kaninchens. Bei weitem kräftiger war die Wirkung des Serums am 21. IX., das am 18. IX. entnommen war:

Nr.	Gewicht	Temp. vor d. Inject.	Menge Serum	1 Std. später	Temperatur nach				Nächsten Morgen
					2 Std.	4 Std.	6 Std.	8 Std.	
1	575 g	38,8	0,05 ccm	1/8 Chol. Ag. C. Massauah 24 St. alt i. p.	37,5	36,9	36,6	36,2	39,0
2	600 „	38,7	0,01 „	do	37,7	37,2	36,4	36,2	39,0
3	610 „	38,6	0,005 „	do.	36,9	36,5	35,6	35,7	39,2
4	580 „	38,4	0,001 „	do.	38,8	37,0	36,2	36,0	38,2
5	550 „	38,4	0,0005 „	do.	39,6	37,2	36,0	35,5	38,0
6	570 „	38,5	0,0001 „	do.	39,3	37,5	36,5	36,4	38,7
7	505 „	38,4	0,0001 „	do.	36,2	35,5	34,5	34,0	37,9
8	420 „	38,6	0,00005 „	do.	37,3	36,5	36,0	34,0	†
9	590 „	38,7	0,00005 „	do.	37,2	36,9	36,5	33,2	†
10	510 „	38,5	—	1/4 do.	39,0	37,2	36,9	32,0	†
11	490 „	38,3	—	1/8 do.	40,1	37,8	36,4	33,0	†
12	530 „	38,1	—	1/16 do	39,3	37,0	36,1	34,5	†

Von diesem ausserordentlich wirksamen Serum standen mir noch über 4,0 ccm zur Verfügung, mit denen ich am folgenden Tage folgenden Versuch machte:

Nr.	Gewicht	Temp. vor d. Inject.	Menge	Temperatur nach					Ausgang
				2 St.	4 St.	4 1/2 St.	6 St.	8 St.	
1	807 g	38,3	1/4 Chol. Ag. C. Massauah 24 Std. alt i. p.	38,0	36,4	—	35,0	34,7	† Nachts
2	970 „	38,6	do.	37,6	35,5	1,0 ccm Serum	33,0	36,7	39,7 lebt
3	790 „	38,7	1/8 do.	38,2	36,0	—	35,1	35,0	† Nachts

Nr.	Gewicht	Temp. vor d. Inject.	Menge	1 Std. später	Temperatur nach			
					2 St.	4 St.	6 St.	8 St.
4	575 „	38,4	3,0 ccm Serum i. p.	Magenimpf (5,0 Sodalös. 5,0 24 st. Ch. B. C., 2,5 ccm Tinct. Op. i. p.)	33,5	33,0	30,0	25,0 †

Bei dem letzten Thier konnte man sich durch den Augenschein und durch Culturen überzeugen, dass es an typischer Meerschweinchen-Darmcholera eingegangen war. Eine Verletzung der Luft- und Verdauungswege liess sich nicht nachweisen.

Das Blutserum des Kaninchens vom 18. IX. war, wie aus den mitgetheilten Versuchen hervorgeht, mindestens ebenso wirksam, wie dasjenige, welches man von Cholera-Reconvalescenten in der günstigsten Zeit zu gewinnen vermag. Dasselbe hatte auch, wenn man so sagen will, heilende Eigenschaften gegen interperitoneale Infection der Meerschweinchen: es gelang, ein Thier noch vier Stunden nach Injection einer kräftigen Dosis, als die Temperatur desselben schon um 3° C. gesunken war, zu heilen, und zwar in verhältnissmässig kurzer Zeit. Aber ausser dieser einen Eigenschaft hatte das Kaninchenserum auch die zweite mit dem Serum von Cholera-Reconvalescenten gemeinsam, dass es selbst in verhältnissmässig grossen Dosen auch nicht den geringsten Effect auf eine nachfolgende Mageninfection ausübte. Das inficirte Thier ging prompt mit rapidem Temperatursturz ein.

Mit Obigem soll durchaus nicht gesagt sein, dass das Kaninchenserum auch sonst mit dem von Cholera-Reconvalescenten übereinstimmte; im Gegentheil habe ich die feste Ueberzeugung, wie noch auszuführen sein wird, dass das letztere noch andere, bisher nicht erkannte oder erkennbare Eigenschaften besitzt, welche wir einem Kaninchenblut durch noch so oft wiederholte intraperitoneale Cholerabacterien-Injection nicht werden verleihen können.

Auch diese Ergebnisse stimmen genau überein mit allen in jüngster Zeit veröffentlichten Berichten über Cholera-Immunisirungsversuche. Es sei noch mitgetheilt, dass wir auch Versuche angestellt haben, durch Fütterung von Meerschweinchen und Kaninchen mit Cholerabacterien Immunität gegen die Darmcholera der erstgenannten Thiere zu erzielen; dass wir z. B. einigen Kaninchen nach jedesmaliger reichlicher Alkaligabe geradezu enorme Mengen von Cholerabacterien zu immer wieder-

holten Malen in den Darmkanal gebracht haben, ohne dass es bisher — die Versuche dauern über ein Jahr lang — gelungen wäre, in dem immer wieder geprüften Blutserum dieser Thiere auch nur eine Spur von immunisirenden Eigenschaften nachzuweisen; auch nicht einmal gegen intraperitoneale Infection. Die Versuche dieser Art an Meerschweinchen wurden derart angestellt, dass den Thieren zunächst einige grosse Dosen Cholerabacterien — 4 bis 5 Agarculturen beim ersten, das zwei- und dreifache beim zweiten und dritten Mal etc. — in den nicht vorbehandelten Magen mit der Schlundsonde gebracht wurden. Die Thiere zeigten Temperaturerniedrigung um 1—1,5° C., die sich schnell wieder ausglich. Nach einigen Fütterungen wurde dann mit geringen Mengen Alkali eine theilweise Abstumpfung der Magensäure zu erzielen gesucht, ehe das Bacterienmaterial eingeflösst wurde. Allmählich steigerte man dann die Alkalimengen in den folgenden Versuchen. Der Erfolg war immer derselbe. Sobald der Alkaligehalt der Sodalösung plus dem der Nährlösung genügte, die Magensäure völlig abzutödten und lebende Cholerabacterien in grösserer Zahl in den Darmkanal gelangen zu lassen, starben die Versuchsthiere sofort unter den bekannten Erscheinungen, ohne die geringste Verzögerung des Krankheitsverlaufes. Erwähnt sei noch, dass weder bei den Meerschweinchen, noch bei den Kaninchen dieser Versuchsreihen trotz wiederholten Suchens Kommabacillen in den Platten aus den Faeces nachgewiesen werden konnten, wenn die Thiere am Leben blieben, obgleich bei einzelnen derselben acht Tage lang nach der Impfung jeden Tag die Untersuchung vorgenommen wurde.

III. Ueber die specifische Bedeutung der intraperitonealen Choleraimpfung.

Schon von anderer Seite[1]) ist in jüngster Zeit darauf hingewiesen worden, dass die meisten Arbeiten über das oben (im 2. Theil) behandelte Thema, soweit sie jüngeren Datums sind, in ihren Ergebnissen negativ ausgefallen sind, dass aber die

1) Voges, Ueber intraperitoneale Cholerainfection der Meerschweinchen. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. XVII, S. 1.

Autoren mit seltener Einmüthigkeit der Versuchung widerstanden haben, die sich aus ihren Experimenten ergebenden Schlüsse zu ziehen. Darüber freilich herrscht wohl nirgends mehr ein Zweifel, dass es nicht gelingt, durch Schutzimpfung gegen Cholerabacterien einen Schutz gegen asiatische Cholera zu erzielen. Diese Thatsache wird um so allgemeiner anerkannt werden müssen, als die gegentheiligen Angaben Klemperer's[1]) vereinzelt dastehen und keine weitere Stütze erhalten haben. Aber über die Gründe für dieses Misslingen hütet man sich fast allgemein, etwas verlauten zu lassen. Und doch liegt in den Klein'schen Experimenten[2]) für Jeden, der sehen will, der Schlüssel für die Erfolglosigkeit aller Bemühungen. Durch Klein's und Sobernheim's[3]) Versuche ist einmal ganz sicher festgestellt, dass der intraperitonealen Cholerainfection der Meerschweinchen, die auf Grund der R. Pfeiffer'schen Untersuchungen auch von R. Koch als integrirender Bestandtheil der bacteriologischen Choleradiagnose angesehen wurde, eine specifische Bedeutung nicht zukommt. Wenn bisher für völlig gleichgültig gehaltene Bacterienarten, in denselben oder sogar geringeren Dosen wie frisch aus dem Darm gezüchtete Choleraculturen, Meerschweinchen intraperitoneal eingespritzt, dasselbe Krankheitsbild, denselben Befund hervorrufen wie die letztgenannten, so hat eben dieser Theil der bacteriologischen Choleradiagnose jede differentialdiagnostische Bedeutung verloren. Man kann sich nur wundern, dass nicht schon vor Veröffentlichung der ersten Pfeiffer'schen Versuche über intraperitoneale Cholerainfection diese so nothwendigen Controlexperimente in ausreichender Weise gemacht sind und dasselbe Resultat ergeben haben. Zweitens aber ist durch die Klein-Sobernheim'schen Untersuchungen bewiesen, dass genau dieselben Veränderungen im Thierkörper, welche bei Immunisirungsversuchen gegen Cholerabacterien erzeugt werden,

1) G. Klemperer, Berl. klin. Wochenschr. 1892, Nr. 32 ff.

2) Klein, Die Anticholeravaccination. Centralbl. f. Bacteriologie und Parasitenkunde, 1893, S. 426.

3) Sobernheim, Zur intraperitonealen Cholerainfection des Meerschweinchens. Hygien. Rundschau 1893, S. 22.

auch mit einer Reihe anderer zum Theil indifferenter, zum Theil pathogener Bacterien zu erhalten sind. Man ist daher genöthigt, die Bezeichnung »Choleraimmunität« für diesen veränderten Zustand des Thierkörpers fallen zu lassen und sich nach einer weniger specifischen Benennung dafür umzusehen.

Im Gegensatz zu dieser Anschauung sucht R. Pfeiffer in zwei Abhandlungen: »Studien zur Choleraätiologie«[1]) und »Ueber die specifische Bedeutung der Choleraimmunität«[2]) den Beweis zu führen, dass die Klein'schen Angaben die Specifität der intraperitonealen Cholerainfection und Choleraimmunität nicht tangiren.

Aus der erstgenannten Arbeit erfahren wir zunächst, dass Pfeiffer schon bei Drucklegung seiner Arbeiten über das Choleragift wusste, »dass andere Vibrionen scheinbar das gleiche Vergiftungsbild hervorbringen können« wie die Kommabacillen der Cholera. Warum diese so äusserst wichtige Thatsache damals kaum mitgetheilt wurde, ist nicht ersichtlich. Unmöglich kann das eine, in jener Arbeit erwähnte, mit Vibrio Finkler-Prior vergiftete Meerschweinchen eine Andeutung dieser Thatsache sein. Weiter stellt Pfeiffer sich zunächst einmal auf den gegnerischen Standpunkt und meint, dass, wenn dieser richtig sei, an die Stelle der Specifität seiner Choleratoxine die Specifität der pathogenen Wirkung der Cholerabacterien auf den Darmtractus des Menschen zu treten habe. So zweifellos richtig das letztere ist, so ist damit doch keine Spur von Gegenbeweis gegen die von Klein festgestellten Thatsachen gegeben. Später stellt Pfeiffer folgende Forderungen für eine Anerkennung der von Klein und Sobernheim beobachteten Resistenz der Meerschweinchen als »echte Choleraimmunität« auf: 1. Muss die so erzielte Schutzwirkung dauernd sein und 2. muss das Blut in einem bestimmten Zeitabschnitt die specifischen Antikörper der Cholera enthalten. Auf diese beiden Forderungen wird späterhin zurückzukommen sein.

1) R. Pfeiffer, Studien zur Choleraätiologie. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. XVI, S. 268 ff.

2) R. Pfeiffer und Issaeff, Ueber die specifische Bedeutung der Choleraimmunität. Zeitschr f. Hyg. u. Inf., Bd. XVII, S. 355 ff

In der zweiten der oben erwähnten Arbeiten ist es Pfeiffer gelungen, die Spreu von dem Weizen zu trennen. Diese Arbeit wird voraussichtlich noch eine Zeit lang für kritische Gemüther eine ergiebige Quelle zu kaum zurückzuweisenden Angriffen gegen die Pfeiffer'schen Darlegungen sein. Um aus der Fülle der anregenden Angaben das Wichtigste herauszunehmen: Die Choleratoxine, jene durch chemische und physikalische Einflüsse aus den Protoplasmasubstanzen der Cholerabacterien künstlich hergestellten giftigen Stoffe, deren Zusammenhanglosigkeit mit asiatischer Cholera schon allein dadurch erwiesen war, dass das Blut von Cholera-Reconvalescenten keine Spur einer Beziehung zu denselben zeigte — diese Choleratoxine sind nunmehr endgültig als abgethan zu betrachten. Die Massauah-Cholera nämlich, jene Art von Vibrionen, mit denen Pfeiffer hauptsächlich seine Untersuchungen über das Choleragift angestellt hatte, sind, da sie dem, was zu beweisen war, sich nicht fügten, zur Spreu gestossen und ihrer bisherigen Würde als Cholerabacterien für verlustig erklärt. Damit ist in jedem Fall die specifische Bedeutung dieser Toxine für Cholera erledigt, mögen dieselben auch von echten Cholerabacterien erhalten werden oder nicht.

Im Uebrigen dient die zweite Arbeit als Ergänzung der ersten, insofern die in letzterer aufgestellten beiden Forderungen als unerfüllbar hingestellt werden. Es ist Pfeiffer nicht gelungen, an Meerschweinchen, bei welchen mehr als zehn Tage seit der letzten Vorbehandlung mit irgend einer der folgenden vier Bacterienarten: Typhus, Proteus, Bact. coli und Pyocyaneus, verflossen waren, eine Resistenz gegen die Impfung mit echter Cholera festzustellen. Es wird das Niemanden wundern, wenn er erfährt, dass die eingespritzten Choleradosen das zehn- bis zwölffache der für Controlthiere angeblich tödtlichen Dosis betragen haben. Des weiteren wird dann in Bezug auf die zweite Forderung festzustellen gesucht, dass das Serum choleraimmunisirter Meerschweinchen neue Thiere nur gegen die nachfolgende Infection mit echter Cholera schützt, während alle anderen Vibrionen in der Lage sind, sich in solchen mit Choleraserum behandelten Thierkörpern dauernd zu vermehren und dieselben in wenigen Stunden zu vernichten.

Es sei mir im Folgenden gestattet, eine Reihe von Versuchen mitzutheilen, die ich im Herbst 1893, bald nach der Klein'schen Veröffentlichung, auf Veranlassung meines hochverehrten Chefs, des Herrn Professor Rubner, dem ich für das dauernde fördernde Interesse an dieser Arbeit auch an dieser Stelle danken möchte, angestellt habe. Wie bei fast allen oben mitgetheilten Versuchen, so ist auch bei diesen die zweite Injection einige, meist zwischen drei und vier Wochen nach der ersten vorbehandelnden Impfung erfolgt. Die Choleraarten, die dabei in Verwendung kamen, waren erstens die alte, seit dem Herbst 1891 von mir im hygienischen Institut fortgezüchtete Laboratoriumscholera, die wahrscheinlich aus Toulon stammt; ferner die berühmte Massauahcholera, deren Eigenschaften völlig mit der von Gruber und Wiener[1]) gegebenen Beschreibung übereinstimmen, mit dem einzigen Unterschied, dass das Fehlen der Nitrosoindolreaction keine konstante Eigenschaft zu sein scheint; und endlich eine Cholera G., eine Cultur, die mein Freund Davids im August 1893 aus einem zur Untersuchung an das Institut gesandten diarrhoischen Stuhl eines bald darauf an Cholera gestorbenen polnischen Arbeiters herausgezüchtet hatte. Die letzte hatte alle typischen Eigenschaften einer echten Choleracultur, theilte jedoch in den ersten Generationen mit der Frohnert-Cultur die Eigenthümlichkeit, die Gelatine ausserordentlich schnell in die Breite zu verflüssigen. Die Culturen des Vibrio Metschnikoff, Finkler-Prior und Deneke, ebenso die des Micrococcus prodigiosus stammen ebenfalls aus der Zeit vor Herbst 1891; nur der erstgenannte hatte zuweilen den Taubenkörper passirt, während die anderen unausgesetzt auf künstlichen Nährböden und zwar etwa alle vier Wochen einmal weitergezüchtet waren. Man kann sich also über ihre schwache Wirkung nicht wundern. Viel stärker war dieselbe bei der erst kürzlich in Reincultur gewonnenen Vibrionenart, dem Danubicus, der wie aus der jetzt folgenden Tabelle ersichtlich, einen äusserst deletären Einfluss auf Meerschweinchen ausübte.

1) Gruber u. Wiener, Cholerastud. I. Arch. f. Hyg, Bd. XV, S. 242 ff.

Bacterienart	Nr.	Gewicht	Temperatur vorher	Menge d. Cultur bei der Vorbehandlung Ort der Einspritzung	Temperatur nach Stunden					Mit Bacterienart inficirt nach Tagen		Dosis	Temperatur nach Stunden					Erfolg	Minimaldosis der zweiten Bacterienart Controlthiere
					2	4	6	8	19	2. Bact.-art	Tage		2	4	6	8	19		
Prodigiosus	1	456 g	38,2	1/2 4täg. bei 20° C. gez. Ag. C. i. p.	39,0	37,4	35,2	29,0	†										
»	2	520 »	38,4	1/5 wie bei 1 i. p.	38,9	39,5	37,0	35,0	†										
»	3	330 »	38,3	1/10 wie bei 1 i. p.	38,3	35,2	33,5	30,0	†										
»	4	362 »	38,4	1/20 wie bei 1 i. p.	38,9	39,0	38,8	37,2	39,2	Cholera G.	16	1/2 Ag. C. 24St.a. i.p.	38,1	34,0	35,0	35,5	37,7	lebt	1/4
»	5	406 »	38,5	1/5 wie bei 1, Culturaufschwemmung 1 mal aufgekocht i. p.	37,1	34,0	33,0	32,0	†										
»	6	404 »	38,3	1/10 wie bei 5 i. p.	38,8	34,0	34,0	33,5	†										
»	7	370 »	38,5	1/2 wie bei 1 subc.	39,0	39,6	39,5	38,9	38,6	»	21	»	37,2	35,5	37,0	38,7	38,6	lebt	1/4
»	8	390 »	38,5	1/5 wie bei 1 subc.	38,6	39,2	37,4	37,0	39,4	»	13	»	37,9	35,6	34,8	32,0		†	1/4
Metschnikoff	9	510 »	38,5	1/2 24 St. alt Ag. C. bei 37° C. gez. i. p.	36,9	37,2	36,5	35,0	†										
»	10	550 »	38,6	1/4 wie bei 9 i. p.	39,3	39,6	37,5	36,0	†										
»	11	480 »	38,7	1/8 wie bei 9 i. p.	39,1	39,3	37,3	36,4	38,4	»	20	1/3 Ag. C 24St.a. i.p.	36,9	36,7	36,0	—		†	1/6
											20								
»	12	500 »	38,3	1/12 wie bei 9 i. p.	39,0	39,4	37,2	36,3	37,9	»		»	37,6	37,0	36,5	—	34,6	†	1/6
»	13	375 »	37,6	1/20 wie bei 9 i. p.	38,2	38,0	37,9	—	38,0	»	26	»	37,2	36,4	35,6	34,9		†	1/6
Danubicus	14	560 »	38,0	1/5 24 St. alt. Ag. C. bei 37° C. gez. i. p	39,0	37,4	35,9	—	†										
»	15	570 »	38,1	1/10 wie bei 14 i. p.	38,9	36,9	35,5	—	†										
»	16	350 »	37,8	1/20 wie bei 14 i. p.	37,7	37,4	37,1	—	36,9†										
»	17	490 »	38,1	1/40 wie bei 14 i. p.	39,2	37,5	36,8	—	38,6	»	22	»	37,1	36,5	36,0	—		†	1/6
»	18	600 »	38,4	1/60 wie bei 14 i. p.	38,8	37,1	36,6	—	37,9	»	22	»	38,8	36,9	37,0	—	38,5	lebt	1/6
»	19	325 »	38,0	1/80 wie bei 14 i. p.	36,5	36,7	37,4	—	38,0	»	22	»	36,9	36,2	36,9	—	38,0	lebt	1/6
Berolinensis	20	490 »	38,0	1/10 24 St. alt. Ag. C. bei 37° C. gez. i. p.	38,8	37,1	36,0	—	34,9†										

Bacterienart	Nr.	Gewicht	Temperatur vorher	Menge d. Cultur bei der Vorbehandlung Ort der Einspritzung	Temperatur nach Stunden 2	4	6	8	19	Mit Bacterienart inficirt nach Tagen: 2. Bact.-art	Tage	Dosis	Temperatur nach Stunden 2	4	6	8	19	Erfolg	Minimaldosis der zweiten Bacterienart für Controlthiere
Berolinensis	21	450 g	37,5	1/20 wie bei 20 i. p.	38,7	38,1	38,4	38,6	38,4	Cholera G.	27	1/4 Ag. C. 24 St. a. i. p.	36,7	36,1	35,3	35,4	35,5	lebt	1/8
Finkler-Prior	22	475 ›	38,4	1/5 24 St. alt. Ag. C. bei 37° C. gez. i. p.	38,8	37,2	36,1	—	37,0	›	26	›	36,8	36,4	35,6	—	34,5	†	1/8
›	23	294 ›	37,2	1/20 wie bei 22 i. p.	35,5	36,7	37,6	—	38,1	›	26	›	39,2	38,2	37,1	—	37,8	lebt	1/8
Aquatilis (Günther)	24	370 ›	37,1	1/20 24 St. alt. Ag. C. bei 37° C. gez i. p.	38,7	38,2	37,9	—	37,7	›	26	›	38,9	37,0	35,1	35,3	37,8	lebt	1/8
Deneke	25	425 ›	37,7	1/20 48 St. alt. Ag. C. bei 22° C. gez. i. p.	38,0	37,7	37,4	—	37,7	›	26	›	37,2	36,2	35,4	35,0	37,2	† nach 6 Tagen	1/8
Dunbar	26	360 ›	37,3	1/20 24 St. alt. Ag C. bei 37° C. gez. i. p.	38,5	38,0	37,9	—	38,2	›	26	›	37,7	36,9	35,8	35,6	37,8	lebt	1/8
Stolper nicht verfl.	27	380 ›	37,6	1/10 24 St. a. Ag. C. bei 37° C. gez. i. p.	37,9	37,6	37,5	—	38,0	›	26	›	39,0	37,1	36,0	35,8	37,2	lebt	1/8
Weibel	28	350 ›	37,0	1/10 48 St. alt. Ag. C. b. 22° C. gez. i. p.	38,0	38,4	38,1	37,9	38,2	›	27	›	37,5	36,7	35,9	35,6	34,5	†	1/8
Cholera (Toulon ?)	29	485 ›	37,3	1/5 24 St. alt. Ag. C. bei 37° C. gez. i. p.	39,5	39,0	38,5	—	37,5	Cholera Massauah	25	1/3 Ag. C. 24 St. a. i. p.	36,9	36,0	35,1	35,0	37,6	lebt	1/6
›	30	571 ›	37,8	1/5 wie bei 29 i. p.	39,0	39,5	38,3	—	37,9	Danubicus	21	1/5 Ag. C. 24 St. a. i. p.	37,9	38,2	37,0	36,8	37,9	lebt	1/10
›	31	490 ›	38,2	1/5 wie bei 29 i. p.	37,9	38,2	37,9	—	38,0	Prodigiosus	30	1/4 Ag. C. 48 St. a. i. p.	38,9	37,5	36,0	35,9	36,0	†	1/8
›	32	478 ›	38,2	1/5 wie bei 29 i. p.	39,0	37,1	36,0	35,8	37,2	›	30	›	37,6	37,0	36,5	35,8	37,4	lebt	1/8
›	33	452 ›	38,2	1/2 wie bei 29 i. p.	37,9	37,0	36,2	35,4	†										
Cholera Massauah	34	539 ›	38,7	1/5 24 St. alt Ag. C. bei 37° C. gez. i. p.	36,7	36,1	35,3	35,4	35,5	Danubicus	30	1/5 Ag. C. 24 St. a. i. p.	37,8	37,0	36,5	36,7	37,8	lebt	1/10

Aus diesen Thierexperimenten geht zunächst in Bestätigung der Klein'schen Versuche hervor, dass Bacterienarten, die bisher für völlig indifferent gehalten waren, zum Theil in ausserordentlich geringen Mengen, die in einigen Fällen weit niedriger sind als die tödtlichen Dosen mancher von uns frisch aus Cholerastühlen isolirten und frisch geprüften echten Choleraculturen, genau dasselbe Krankheitsbild bei Meerschweinchen nach intraperitonealer Injection hervorzurufen vermögen, wie der Vibrio Koch. Auch die aus der Tabelle nicht erkennbaren Erscheinungen, Muskelschwäche, Umfallen, waren genau dieselben. Der pathologisch-anatomische Befund und der sich aus den Impfungen mit den Körpersäften ergebende Bacteriengehalt waren in nichts unterschieden von den Befunden, die von mit Cholera geimpften Thieren erhalten werden. Bauchhöhlenexsudat, Brusthöhlenserum und Blut enthielten massenhaft die geimpften Keime, auch in den Fällen von Prodigiosus-Impfung, wo das Impfmaterial einmal aufgekocht war.

Vor allem aber geht aus diesen Versuchen hervor, dass es noch nach 16—27 Tagen gelingt, einen ziemlichen Grad von Widerstandsfähigkeit gegen intraperitoneale Cholerainjection bei diesen Thieren nachzuweisen, vorausgesetzt, dass man die Dosen der Cholerabacterien nicht zu hoch wählt. In unseren Versuchen wurde stets das Doppelte der von gleich schweren Controlthieren eben nicht mehr vertragenen Dosis eingespritzt. Ferner scheint aus einigen Fällen (Nr. 7 und 8; 17—19; 31 und 32) hervorzugehen, dass die Grösse der vorbehandelnden Culturmenge einen bestimmenden Einfluss auf das Vorhandensein oder Fehlen der Widerstandsfähigkeit ausübt. Die an den Thieren beobachteten Temperaturen sind allerdings sehr niedrige, aber das einzig ausschlaggebende Kriterium ist doch schliesslich, dass sie am Leben bleiben.

Mit diesen Experimenten ist also der Nachweis geführt, dass die Resistenz der mit gleichgiltigen Bacterienarten intraperitoneal geimpften Thiere gegen »Choleraintoxication« nicht nur drei bis zehn Tage anhält, also auf gewisse Veränderungen des Bauchfells zu beziehen ist, sondern dass dieselbe eine dauernde ist,

soweit man eine Dauer bei diesen Vorgängen verlangen kann. Es ist oben mitgetheilt, dass auch bei der »echten Cholera-immunität«, bei Vorbehandlung mit Choleraculturen, die Resistenz von der vierten Woche an in unseren Versuchen abzunehmen schien. Wenn Pfeiffer diese bei unseren Thieren nachgewiesene Widerstandsfähigkeit als wahre Immunität auffasst, so ist nach einem seiner Sätze der letzten Arbeit (S. 357) nicht mehr an der Gleichheit der in den verschiedenen Bacterienarten enthaltenen Giftsubstanzen zu zweifeln.

Der einzige Organismus, bei welchem in zahlreicheren Versuchen eine »Immunität« nicht nachgewiesen werden konnte, ist der Vibrio Metschnikoff, und ich bin nach den Ergebnissen dieser und anderer Thierversuche geneigt zu glauben, dass in der That diesem Mikroorganismus, nicht aber dem Vibrio der Cholera asiatica andersartige Giftstoffe inne wohnen, als dem Prodigiosus, dem Proteus, dem Heubacillus und anderen. Mit dieser Anschauung würden auch die neuen Pfeiffer'schen Ergebnisse im Einklang stehen.

Weiter geht nun aber aus der Tabelle hervor, dass es auch gelingt, durch vorherige Impfung von Choleraculturen Versuchsthiere gegen Prodigiosus, Danubicus, Cholera Massauah für längere Zeiträume zu festigen. Nach unseren bisherigen Anschauungen können wir uns hierüber keine andere Vorstellung machen, als dass diese Widerstandsfähigkeit sich auch in den Körpersäften der Thiere, speziell im Blutserum derselben, wird nachweisen lassen, vorausgesetzt, dass die Thiere genügend hoch immunisirt sind, dass genügende Mengen des Serums den neuen Thieren eingespritzt werden, und dass diese letzteren nicht gleich mit dem 9—12fachen der für Controlthiere tödtlichen Minimaldosis der zweiten Bacterienart infizirt werden. Solche Versuche mit Choleraserum sind bisher nicht bei uns gemacht worden, aber mir scheint die obige Argumentation so selbstverständlich, so einleuchtend zu sein, dass ich es für unwesentlich halte, auch noch dies letzte Glied in der Kette der Beweise für die Unhaltbarkeit der Pfeifferschen Anschauungen einzufügen. Die specifische Bedeutung der

»intraperitonealen Cholerainfection und Immunität« ist nach meiner Ansicht endgültig abgethan. Wer sich ferner mit der Wirkung von weitverbreiteten Bacterienproteïnen auf das Bauchfell und die Körpersäfte von Meerschweinchen beschäftigen will dem kann natürlich Niemand wehren, und schliesslich ist es auch nicht ganz uninteressant, zu erfahren, was für Vorgänge sich dabei innerhalb des Peritoneums abspielen. Aber man soll nicht von Anderen weiter den Glauben verlangen, dass diese Dinge mit der menschlichen Cholera auch nur das Geringste zu thun haben oder unser Wissen über diese Krankheit in etwas fördern könnten.

Als ob durch das Fallenlassen der specifischen Bedeutung dieser Vorgänge die ätiologische Rolle der Koch'schen Kommabacillen für die Erzeugung der asiatischen Cholera auch nur im Geringsten beeinträchtigt würde! Pfeiffer hat sich ja selbst diesmal auf das Vorhandensein des menschlichen Darmtractus besonnen. Der menschliche Dünndarminhalt ist eben immer noch keine alkalische Peptonlösung. Warum soll man nicht hoffen, durch grössere Berücksichtigung der Zusammensetzung dieses natürlichsten Nährbodens für Cholerabacterien weitere Aufschlüsse oder zunächst nur Fingerzeige für einen weiteren Weg zur Auffindung des Choleragiftes zu erlangen, des chemischen Körpers, der in schweren Krankheitsfällen ein so prägnantes Vergiftungsbild hervorruft?

Zweierlei möchte ich am Schlusse dieser Arbeit noch kurz hervorheben. Es ist bisher immer, auch in den obigen Versuchen, stillschweigend angenommen worden, dass zum Beweise einer erlangten Immunität gegen Cholera es gelingen müsse, mit dem immunisirenden Agens Meerschweinchen gegen intrastomachale Infection zu schützen. Nichts zwingt uns eigentlich, eine völlige Identität der menschlichen Choleraerkrankung und dieser künstlich mit vielen Umständen erzeugten Vergiftung der Meerschweinchen anzunehmen. Wohl aber sprechen eine Reihe von Gründen dagegen. Es wäre ja auch möglich, dass in dem Darm der Meerschweinchen die zur Erzeugung jenes eigentlichen Choleragiftes nothwendige Umwandlung gar nicht vor sich geht, da es

z. B. nicht gelingt, mit dem Blut von Cholerareconvalescenten einen Schutz der Meerschweinchen gegen intrastomachale Infection zu erzielen. Man wird daher vielleicht in Zukunft zu anderen Methoden greifen müssen, um den Beweis einer geglückten Schutzimpfung zu führen.

Andererseits ist es durchaus nicht etwa nöthig, aus dem Umstand, dass es gelingt, mit dem Blute solcher Reconvalescenten gegen die intraperitoneale, intravenöse etc. Infection zu festigen, nun zu schliessen, dass Bacterienleiber und Choleragift identisch seien, dass beide Begriffe sich völlig deckten. Bei der asiatischen Cholera können sich gewiss ähnliche Stoffwechselprodukte der Kommabacillen, wie wir sie bisher in alkalischen Peptonlösungen haben bilden gesehen, erzeugen, es können auch massenhaft abgestorbene und aufgelöste Cholerabacterienleiber im Darme vorhanden sein. Beide Stoffe würden vom Körper resorbirt werden, und wie sollte man sich dann wundern, wenn das Blut solcher Personen nachher stark immunisirende Eigenschaften gegen die Vibrionen besässe? Aber ausser diesen »Toxalbuminen« können doch auch noch andere Körper höchster Giftigkeit im Darme gebildet werden, die die Ursache der rapide eintretenden Todesfälle sind, und gegen welche sich vielleicht auch Schutzstoffe im Blute Cholerageheilter nachweisen lassen. Haben wir solche Giftstoffe in der Hand, dann wird es Zeit sein, die Versuche über Immunisirung gegen Cholera von neuem aufzunehmen; dann wird sich auch endgültig entscheiden lassen, ob es überhaupt eine Immunität gegen die Cholera gibt, und ob dieselbe durch Blutserum übertragbar ist.

Ueber einige Arten von Wasserbacterien, die auf der Gelatineplatte typhusähnliches Wachsthum zeigen.

Von

Dr. med. A. del Rio
aus Santiago de Chile.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin.)

In seinem Berichte über die Untersuchung des Wassers der Oberspree bei Berlin auf Typhusbacillen hat Günther[1]) angegeben, dass die typhusähnlich wachsenden Colonien, welche bei den erwähnten Untersuchungen auf den mit dem Wasser angelegten Gelatineplatten zur Entwickelung kamen, sich sämmtlich als weder dem Typhusbacillus, noch dem Bact. coli angehörig erwiesen haben. Günther prüfte die verdächtigen Colonien in der Weise, dass er sie in Gährungskölbchen mit Traubenzuckerbouillon übertrug, die dann einer Temperatur von 37° C. ausgesetzt wurden. Unter diesen Bedingungen wächst sowohl der Typhusbacillus wie das Bact. coli commune ausgezeichnet. Beide Bacterienarten trüben im Verlaufe von 24 Stunden die ganze Menge der Bouillon. Dabei bildet das Bact. coli Gas, welches sich in dem geschlossenen Schenkel des Gährungskölbchens ansammelt, während der Typhusbacillus kein Gas bildet. Die oben erwähnten Bacterien aus dem Spreewasser

1) Archiv f. Hygiene, Bd. XXI, 1894, S. 99.

zeigten nun übereinstimmend die Eigenthümlichkeit, dass sie in den Gährungskölbchen bei Brüttemperatur überhaupt nicht zur Entwickelung gelangten; hiermit war selbstverständlich ohne Weiteres ihre Differenz von dem Typhusbacillus sowohl wie von dem Bact. coli nachgewiesen.

Auf Anrathen des Herrn Dr. Günther habe ich mich nun im Laboratorium des Herrn Professors Rubner mit dem Studium derartiger Wasserbacterien beschäftigt, dessen Ergebnis ich im Folgenden kurz wiedergeben möchte. Zum Vergleich wurde stets auch der Typhusbacillus (Cultur aus der Sammlung des Hygienischen Instituts) und das Bact. coli (aus normalen, menschlichen Fäces gewonnen) in die Versuche einbezogen.

Die Arbeit wurde während des Wintersemesters 1893/94 gemacht.

Auf den Culturplatten, welche ich verschiedentliche Male aus Spree- resp. Havelwasser anlegte, fanden sich bei genauerer Betrachtung drei verschiedene Bacterienarten, deren Colonien in ihrem Aussehen leicht eine Verwechselung mit Bact. coli resp. Bac. typhi abdominalis herbeiführen konnten. Diese drei Arten, über deren Eigenschaften ich im Folgenden berichten will, wurden zum leichteren Verständnis und um jeder Irrung vorzubeugen, mit den Buchstaben a, b und c bezeichnet.

Um über die Eigenschaften dieser drei Organismenarten Näheres zu erfahren, wurden (wie erwähnt, stets unter Vergleichung mit dem Typhusbacillus und dem Bact. coli, die denselben Versuchsbedingungen unterstellt wurden) folgende Punkte studirt:

I. Gelatineplattencultur.

II. Gelatinestichcultur.

III. Agarculturen
  1. bei Zimmertemperatur,
  2. bei 37° C.

IV. Gewöhnliche Bouilloncultur
  1. bei Zimmertemperatur,
  2. bei 37° C.

V. Kartoffelcultur (bei Zimmertemperatur)
   1. auf gewöhnlicher Kartoffel,
   2. auf Sodakartoffel,
   3. auf Essigsäurekartoffel.

VI. Stichcultur in 2%igem Traubenzuckeragar.

VII. Cultur im Gährungskölbchen mit 2%iger Traubenzucker-bouillon
   1. bei Zimmertemperatur,
   2. bei 37° C.

VIII. Gerinnungsprobe der Milch.

IX. Formen und Beweglichkeit der Mikroorganismen a, b und c.

X. Färbbarkeit derselben (Gram'sche Methode).

(Versuch I—X siehe Seite 94—100.)

Versuch I.

	24 Stunden	48 Stunden	4. Tag
Bacillus Typh. abd.	Platte 0. } Noch keine merkliche Entwickelung » I. » II.	Platte 0. Erscheint trübe. Unter dem Mikroskop gesehen, bemerkt man eine Unmenge kleiner runder Pünktchen. Platte I. } Noch nichts zu sehen. » II.	Auf den Platten 0, I u. II einige vereinzelte oberflächliche Colonien, welche wie eine kleine Haut erscheinen und unregelmässige Form haben.
Bacterium coli com.	Platte 0. Vollständig besät mit kleinen unregelmässig gezackten Colonien. Platte I Zeigt kleine oberflächliche, runde, stark lichtbrechende Häutchen von weisslicher Farbe.	Platte 0. Ausserordentlich confluirende Colonien, welche keine richtigen Grenzen zeigen. Platte I. Wie gestern, nur etwas vergrössert.	Platte II. Die oberflächlichen Colonien haben eine grosse Entwickelung erreicht. Einige erreichen bis 0,5 cm Durchmesser. Unregelmässiger Rand.
Organismus a	Platte 0. Enorme Entwickelung v. Colonien. Platte I. Kleine runde Colonien mit leicht granulirtem Centrum.	Platte II. Wie gestern auf der Platte I.	Platte II. Die oberflächlichen Colonien haben sich enorm entwickelt, einige erreichen bis 1 cm Durchmesser. Die Ränder bleiben unregelmässig wie bei Bact. coli.
Organismus b	Platte 0. Sehr reichliche Colonien, unmöglich einzeln zu beobachten. Platte I. } Noch gar nichts. » II	Platte II. Einige wenige Colonien mit unregelmässigen und stark ausgezackten Rändern.	Platte II. Oberflächliche, beinahe zusammenfliessende Colonien, welche 2—3 mm Durchmesser haben. Bilden kleine, durchsichtige, dünne Häutchen mit weissem, milchigen Centrum. Rand nicht so unregelmässig wie bei Bact. coli.
Organismus c	Platte 0. Milchig. Platte I. Zahlreiche kleine rundliche Colonien von stark lichtbrechenden Grenzen. Platte II. Noch nichts.	Platte II. Die oberflächlichen Colonien sind stark gewachsen, von ca. 2 mm Durchmesser. Beinahe runde Formen und gezackte Ränder.	Platte II. Dichte Häutchen 2—3 mm Durchmesser, weissgelbl. Farbe, runde Form, gezackte Ränder.

Gelatineplatten.

5. Tag	6. und 7. Tag
Die oberflächlichen Colonien haben sich ein wenig mehr entwickelt.	Die Colonien erreichen kaum 1/3 cm, während dagegen diejenigen des B. coli wenigstens 1 cm messen. Die Häutchen, welche der Bacillus typhi abdom. bildet, sind feiner und mit dünnerem Rand und weniger unregelmässig als diejenigen des B. coli.
Wie Tags zuvor.	Unter dem Mikroskop zeigen die Typhuscolonien ein geordnetes System von Linien, während die des B. coli gar nichts ähnliches bieten.
Wie Tags zuvor.	Die Farbe des B. coli ist milchig ohne gelbliche Nüance. Das Centrum ist emporgewölbt und von weisser Farbe. Die Colonien vom Mikroorganismus a sind dichter, von weisslicher Farbe mit leichtem gelblichen Ton. Die Colonien des B. coli sind weniger dicht, mit viel feineren Zacken und Streifen wie die des Mikroorganismus a.
Wie Tags zuvor.	Die Häutchen sind weiss getrübt, noch leicht durchsichtig. Centraler Theil dichter, rauh, die Ränder leicht unregelmässig.
Wie Tags zuvor, etwas vergrössert. Ränder unter dem Mikroskop rundlich gezackt.	Wie Tags zuvor, nur etwas trübe.

Versuch II. Gelatinestichcultur.

	48 Stunden	3. Tag	4. Tag
Bacillus Typhi abdom.	Tiefe und oberflächliche Entwickelung.	Hauptsächlich oberflächliche Entwickelung, ein unregelmässig rundes, durchsichtiges Häutchen mit sehr feinen Rändern.	Die Ränder der Häutchen erscheinen heller und durchsichtiger als bei Bact. coli.
Bacterium coli.	Tiefe Entwickelung wie bei Typhus, oberflächliche dünne Häutchen mit einem weissen Centrum.	Häutchen 2—3mal grösser als bei Typhus, erscheint dichter, mit erhobenem weissen Centrum. Rand unregelmässig; Doppelt-Contour nicht so bemerkbar.	Wie Tags zuvor.

Versuch III und IV. Agar- und Bouilloncultur

	Nach 24 Stunden				Nach	
	Zimmertemperatur		Bei 37°		Zimmertemperatur	
	Bouillon	Agar	Bouillon	Agar	Bouillon	Agar
Bac. Typhi abd.	Nichts.	Nichts.	Sehr trübe, mit Sediment u. Häutchen.	Es fängt die Entwickelung an	Leicht getrübt.	Entwickelung kaum sichtbar.
Bacterium coli.	Allgemeine Trübung.	Sehr schwache Entwickelung.	Grosse allgemeine Trübung, leichtes Sediment.	Zahlreiche Entwickelung.	Trübung, Sediment.	Reichliche Entwickelung.
Organism. a	Schwache allgemeine Trübung.	Reichliche Entwickelung.	Sehr schwache Trübung.	Sehr starke Entwickelung.	Allgemeine Trübung u. leichtes Sediment.	Zahlreiche Entwickelung.
Org. b	›	Schwache Entwickelung.	Keine Veränderung.	Nichts	Allgemeine Trübung, Sediment.	Starke Entwickelung.
Organ. c	›	Starke Entwickelung.	Sehr schwache allgemeine Trübung.	Starke Entwickelung	Leichte Trübung, wenig Sediment.	Sehr starke Entwickelung.

Fortsetzung zu Versuch II. Gelatinestichcultur.

	48 Stunden	3. Tag	4. Tag
Organismus a	Zahlreiche Entwickelung wie bei Bacterium coli, wenngleich ohne Häutchen.	Schwache Entwickelung in der Tiefe, Häutchen dicker und unregelmässiger als bei Typhus und Bact. coli. Kein erhobenes Centrum.	Wie Tags zuvor.
Organismus b	Oberflächlich wenig Entwickelung, in der Tiefe wie bei Typhus.	Hauptsächlich oberflächliche Entwickelung. Häutchen so gross wie das des Bact. coli, u. so dünn wie das bei Typhus.	Wie Tags zuvor.
Organismus c	Nicht sehr starke Entwickelung.	Sehr schwache Entwickelung in der Tiefe, auf der Oberfläche nur an den Rändern des Stiches. Kein Häutchen.	Wie Tags zuvor.

bei Zimmer- und Brutschranktemperatur.

48 Stunden		Nach 3 Tagen			
Bei 37°		Zimmertemperatur		Bei 37°	
Bouillon	Agar	Bouillon	Agar	Bouillon	Agar
Grosses Sediment nnd dickes Häutchen.	Reichliche Entwickelung.	Durch das reichlich deponirte Sediment hat sich die Bouillon etwas geklärt.	Sehr bemerkliche Entwickelung.	Wie am vorherigen Tag.	Sehr reichl. Entwickelung von milchig weissen Massen sehr glänzend u. etwas durchsichtig.
Allgemeine Trübung, Häutchen, Sediment.	Zahlreiche Entwickelung.	Starke Trübung, wenig Sediment.	Zahlr. Entwickelung von dicken, weissen Massen, wenig glänzend und undurchsichtig.	Trübung stärker als bei Typhus, aber weniger Sediment.	Ebenfalls reichliche Entwickelung.
Sehr leichte, beinahe unmerkbare Trübung, leichtes Sediment.	Zahlreiche Entwickelung, aber nicht so stark wie bei vorhergehender Temperatur.	Schwache Trübung, wenig Sediment.	Sehr starke Entwickelung v. weisslich gelblichen, glänzenden Massen.	Wie Tags zuvor.	Wie bei Zimmertemperatur.
Vollkommen klar, leichtes Sediment.	Nichts.	Starke Trübung, wenig Sediment.	Starke Entwickelung.	Wie Tags zuvor.	Nichts.
Leichte Trübung.	Leichte Entwickelung, aber minder als bei Zimmertemp.	Wie Tags zuvor.	Starke Entwickelung.	Bouillon gänzlich klar, Sediment.	Wie Tags zuvor.

Versuch V. Kartoffelcultur (Zimmertemperatur).

	24 Stunden			3. Tag		
	Gewöhnl. Kartoffel	Sodakartoffel	Essigsäure-Kartoffel	Gewöhnl. Kartoffel	Sodakartoffel	Essigsäure-Kart.
Bacillus Typhi abdom.	Auf der Oberfläche bemerkt man einen eigenthümlichen Glanz.	Nichts.	Nichts.	Glänzende Oberfläche.	Auch glänzende Oberfläche.	Nichts.
Bacterium coli	Kaum bemerkbare Entwickelung.	Sichtbarer glänzender Belag.	Nichts.	Dicker Belag von gelblicher, schmutziger Farbe und öligem Aussehen.	Dicker Belag, leicht gelb gefärbt, wenig glänzend.	Beinahe gar keine Entwickelung.
Mikroorganismus a	Nichts.	Nichts.	Nichts	Ein weisslich-grauer, schmutziger Belag, ohne Glanz, höckerig.	Wie auf der gewöhnlichen Kartoffel.	Nichts.
Mikroorganismus b	Reichlicher Belag mit dunkler, undurchsichtiger Oberfläche.	Deutlicher Belag, etwas glänzende Oberfläche.	Nichts.	Dicker röthlich-gelber Belag, undurchsichtig.	Dicker Belag, noch etwas gelblicher wie auf der gewöhnlichen Kartoffel.	Nichts.
Mikroorganismus c	Nichts.	Schon bemerklicher Belag, nicht glänzend.	Nichts.	Dicker gelblich-weisser, schmutziger, wenig glänzender Belag.	Wie auf der gewöhnlichen Kartoffel.	Nichts.

Versuch VI. Stichcultur in Agar mit 2% Traubenzucker.

	24 Stunden	48 Stunden	3. Tag
Bacillus Typhi abd.	Deutlich oberflächliche und tiefe Entwickelung.	Wie Tags zuvor.	Wie Tags zuvor.
Bacterium coli commune	Reichlichere Entwickelung als die des Typhus. In der Tiefe haben sich Gase entwickelt, welche das Agar. zerrissen haben.	Die Agarmasse ist in verschiedene Theile getrennt.	Wie Tags zuvor.
Mikroorganismus a Mikroorganismus b Mikroorganismus c	Hauptsächliche Entwickelung an der Oberfläche.	Wie Tags zuvor.	Wie Tags zuvor.

Versuch VII. Gährungsprobe in Kölbchen (Bouillon mit 2% Traubenzucker).

	a) bei Zimmertemperatur		b) bei 37°	
	24 Stunden	48 Stunden	24 Stunden	48 Stunden
Bacillus Typhi abdom.	Bouillon vollständig trübe.	Noch trüber als gestern, keine Gasentwickelg.	Bouillon vollständig getrübt, kein Gas.	Wie Tags zuvor.
Bacterium coli commune	Bouillon nur getrübt am Halse des Kölbchens.	Noch trüber als bei Typhus. Am geschlossenen Ende sammelt sich das Gas.	Bouillon sehr u. gleichmässig getrübt. Grosse Gasentwickelg., nimmt ein Drittel des Kölbchens ein.	Wie Tags zuvor, noch etwas mehr Gas.
a	Leichte Trübung am Halse des Kölbchens, kein Gas.	Wie Tags zuvor.	Gar keine Veränderung.	Bouillon noch klar, leichte Spur von Sediment, kein Gas.
b	Starke Trübung, nur am Halse. Auf der freien Oberfläche ein dickes Häutchen, kein Gas.	Wie Tags zuvor, noch bemerklicher getrübt.	Keine Veränderung.	Bouillon klar, keine Spur von Sediment, kein Gas.
c	Sehr schwache Trübung am Halse. Keine Gasbildung.	Wie Tags zuvor	Keine Veränderung.	Bouillon klar, keine Spur von Sediment, kein Gas.

Versuch VIII. Milchprobe (Zimmertemperatur).

	24 Std.	4. Tag	8. Tag	Bemerkungen
Bacillus Typhi abdom.	Nichts.	Nichts.	Nichts.	Nach dem 8. Tag wurde es einer Temperatur von 37° C. ausgesetzt, ohne Gerinnung der Milch nach 24 Stunden.
Bacterium coli commune	»	»	»	Nach dem 8. Tag wurde es einer Temperatur von 37° C. ausgesetzt mit vollkommener Gerinnung der Milch. Ein geimpftes Gährungskölbchen zeigte nach 24 Stunden reichliche Gasentwickelung.
Mikroorganism. a	»	»	»	Nach dem 8. Tag wurden diese drei Organismen einer Temperatur von 28° C. ausgesetzt, wobei gar keine Gerinnung bemerkt wurde.
Mikroorganism. b	»	»	»	
Mikroorganism. c	»	»	»	

Versuch IX. Form und Beweglichkeit.

Bacillus Typhi abdom.	Die bekannten.
Bacterium coli commune	Die bekannten.
Mikroorganismus a	In hängenden Tropfen untersucht, erscheinen die Organismen gleichmässig vertheilt und machen den Eindruck, als ob sie in Zooglöaform wären Diese Organismen haben keine Eigenbewegung. Erscheinen meistens zu je zweien aneinander gereiht und haben ein sehr kurzes stäbchenförmiges Aussehen.
Mikroorganismus b	Mit einer sehr lebhaften Eigenbewegung, hat eine rein bacilläre Form, dünn und lang, eine einzelne, sehr feine und schwer nachweisbare Geissel an einem Ende.
Mikroorganismus c	Keine Eigenbewegung, reine Mikrococcenform. Die Elemente gewöhnlich vereinzelt, aber im hängenden Tropfen ist es nicht selten, Streptococcenformen anzutreffen.

Versuch X. Färbbarkeit nach der Gram'schen Methode.

Mikroorganismen **a**, **b** und **c** entfärben sich bei der Gram'schen Behandlung ebenso wie Bac. Typh. abdom. und Bact. coli commune.

Fasse ich die charakteristischen Eigenschaften der von mir studirten, auf der Gelatineplatte typhusähnlich wachsenden Wasserbacterien, wie sie sich aus den vorstehenden Tabellen ergeben, zusammen, so handelt es sich bei den Mikroorganismen a und b um Bacillen, während c ein Mikrococcus ist.

a ist ein kurzer, plumper, meist in Verbänden zu zweien vorkommender Bacillus ohne Eigenbewegung, welcher auf den gewöhnlichen Nährböden bei Zimmertemperatur gut gedeiht, bei 37° C. etwas schwächer wächst.

b ist ein schlanker, lebhaft eigenbeweglicher Bacillus, welcher die Brüttemperatur völlig verschmäht, nur bei Zimmertemperatur gedeiht.

c ist ein mittelgrosser, einzeln oder in kleinen Ketten anzutreffender Mikrococcus, welcher bei Zimmertemperatur gut, bei Brüttemperatur weniger gut wächst.

Die Differenzirung dieser Organismen von dem Typhusbacillus sowohl wie von dem Bact. coli ist mit Hilfe der Gelatineplatten-Cultur nicht sicher ausführbar; sehr leicht ist sie jedoch, wie bereits Eingangs erwähnt, dadurch zu erreichen, dass man das Material von den Gelatineplattencolonien auf Gährungskölbchen mit Traubenzuckerbouillon überträgt. Werden die geimpften Kölbchen bei Zimmertemperatur gehalten, so tritt (im Gegensatze zu den bei Bact. coli und bei dem Typhusbacillus zu beobachtenden Wachsthumserscheinungen) nur in dem mit dem freien atmosphärischen Sauerstoff in Berührung stehenden Theile des Nährbodens Entwickelung ein; werden die Kölbchen bei Brüttemperatur gehalten, so findet (wiederum im Gegensatze zu den Verhältnissen bei Bact. coli und bei dem Typhusbacillus) überhaupt kein Wachsthum statt.



Ueber die Verbrennungsproducte des Leuchtgases und deren Einfluss auf die Gesundheit.

Von

H. Chr. Geelmuyden.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität in Christiania.)

Nachfolgende Untersuchungen verdanken ihre Entstehung dem Director des Gaswerks in Christiania, Herrn Ingenieur O. Pihl. – Da die Frage nach den gesundheitsschädlichen Wirkungen der Gasbeleuchtung in späterer Zeit wie überall, so auch in Christiania stark discutirt worden ist, und da es ausserdem schien, als ob im grossen Publikum gar übertriebene Vorstellungen von diesen Wirkungen herrschten, so hegte die Direction des Gaswerks einen leicht erklärlichen Wunsch, die Frage durch ein an Ort und Stelle durch experimentelle Untersuchungen gewonnenes Material beleuchtet zu sehen. Dieselbe richtete deswegen an das physiologische Institut die Bitte, es möge untersuchen, inwiefern die Verbrennungsproducte des vom Gaswerk in Christiania gelieferten Leuchtgases die behaupteten schädlichen Eigenschaften wirklich besässen.

Die Frage schien mir von so grossem Interesse, dass ich mich aufgefordert fühlte, meine Beiträge zu ihrer möglichst vollständigen Lösung zu liefern. Ich ging deswegen auf den Wunsch des Herrn Director Pihl ein und stellte eine Reihe Untersuchungen an. Diese erstrecken sich über einen Zeitraum von sechs Monaten, während welchem fast täglich Experimente angestellt wurden.

Nun haben die verschiedenen Punkte der Gasbeleuchtungsfrage schon längst von verschiedenen Hygienikern eine eingehende Bearbeitung gefunden. Die gestellte Aufgabe machte mir es nichtsdestoweniger zur Pflicht, die älteren Untersuchungen zum grösseren Theil zu wiederholen. Theils stammen nämlich die vorliegenden Arbeiten über die Hygiene der Gasbeleuchtung schon aus älterer Zeit, und die Fortschritte, welche die Technik der Gasbeleuchtung gemacht hat, sowohl was Fabrikation als was Anwendung des Gases anbelangt, liessen vielleicht andere, und zwar günstigere Resultate erneuerter Untersuchungen vermuthen, als die schon vorliegenden. Theils ist ja auch das Leuchtgas ein industrielles Product, dessen Zusammensetzung von der Fabrikationsmethode, sowie von dem verwendeten Rohmaterial nicht unabhängig ist, so dass es mir von vornherein nicht zulässig schien, den Resultaten von Untersuchungen, die an anderen Orten und mit anderen Fabrikaten angestellt waren, eine allgemeine Gültigkeit beizulegen.

In der That zeigten mir auch meine Versuchsergebnisse, dass die mit der Wiederaufnahme der älteren Untersuchungen verbundene Arbeit nicht überflüssig gewesen ist. Sie weichen nämlich von den aus früherer Zeit vorliegenden in mancher Beziehung ab. Gerade deshalb durfte ich auch glauben, dass sie allgemeineres Interesse nicht entbehrten und bestimmte mich dazu, sie einem grösseren Leserkreise als dem, welchem sie ursprünglich bestimmt waren, mitzutheilen.

Bevor ich aber zur Beschreibung der einzelnen Versuchsmethoden und deren Ergebnisse übergehe, will ich die Begrenzung der Frage, mit welcher ich mich zu beschäftigen hatte, etwas näher feststellen.

Es handelt sich hier nicht um das unverbrannte Leuchtgas, so wie es sich in den Gasleitungsröhren befindet. Dieses ist in Christiania wie überall sonst wegen seines Gehaltes an Kohlenoxyd ein starkes Gift, wogegen man sich zu schützen hat durch sorgfältiges Ueberwachen, dass die Gasleitungsröhren dicht sind.

Die Verhältnisse, die eintreten, wenn Leuchtgas zum Kochen oder Heizen in Wohnzimmern benutzt wird, sind auch nicht in

unserer Frage mit einbegriffen. Wenn Leuchtgas in dieser Weise angewandt wird, soll nämlich immer dafür gesorgt werden, dass die Verbrennungsproducte durch einen Schornstein oder Aehnliches weggeleitet werden. Sie kommen deswegen, was die Hygiene unserer Wohnräume anbetrifft, nicht in Betracht.

Meine Untersuchungen umfassen nur die Verbrennungsproducte, die gebildet werden, wenn Leuchtgas zur **Beleuchtung** von Wohnzimmern verwendet wird. Geschieht dies ohne Benutzung von Lampen, die, wie die Siemens'schen und Wenham-schen Gaslampen die Verbrennungsproducte ableiten, so gelangen die Verbrennungsproducte in die beleuchteten Räume.

Halten sich da Menschen auf, so athmen sie die mit der Luft vermischten Verbrennungsproducte ein.

Nun ist es eine alltägliche Erfahrung, dass die Luft in Wohnzimmern, die mit Gas beleuchtet sind, häufig unangenehm und drückend empfunden wird. Sie nimmt einen süsslich-saueren unangenehmen Geruch an, und ich habe Beschwerden darüber gehört, dass Reizung der Kehlkopf- und Rachenschleimhaut eintreten kann.

Dies hat wenigstens zum Theil seinen Grund in einer mangelhaften Verbrennung des Leuchtgases, bei welcher sich verschiedene Kohlenwasserstoffe, vorzugsweise Acetylen, bilden sollen. Wenigstens soll der genannte Geruch, welchen man auch wahrnimmt, wenn ein Bunsenbrenner »durchschlägt«, von diesem Kohlenwasserstoff herrühren. Er wird wahrgenommen, wenn Brenner von altmodischer und unzweckmässiger Construction benutzt werden, oder wenn die ganze Einrichtung beim Aufsetzen der Brenner unzweckmässig angeordnet ist, wenn z. B. die Luftzufuhr im Verhältnis zum Gasverbrauch zu klein ist.

Andererseits werden viele Leute, die bei Gasbeleuchtung arbeiten, es als eine Thatsache hinstellen, dass dies gar nicht mit Unannehmlichkeit verbunden zu sein braucht. Die Verschlechterung der Luft scheint also nicht immer in der Verbrennung von Leuchtgas an und für sich ihren Grund zu haben, sondern muss als ein Fehler betrachtet werden, der, wenigstens

wenn das Gas von guter Qualität ist, mit wenig Mühe und Unkosten entfernt werden kann.

Nun würde selbstverständlich zur Lösung der mir vorgelegten Frage kein werthvoller Beitrag geliefert sein, wenn ich bei meinen Untersuchungen solche altmodische oder schlecht eingerichtete Brenner gewählt und nachgewiesen hätte, dass diese mehr oder weniger gesundheitsschädliche Producte liefern. Dass dies der Fall sein würde, konnte von vornherein vorausgesehen werden und ist in der That auch als nachgewiesen zu betrachten.

Die Frage musste sich vielmehr so stellen: Liefert das am Gaswerke in Christiania producirte Leuchtgas beim Gebrauch von guten Brennern gesundheitsschädliche Verbrennungsproducte?

In dieser Form habe ich mir die Frage gestellt, die mir zur Beantwortung vorlag, und die Antwort ist, so wie sie aus meinen Untersuchungen hervorgeht, für das betreffende Gas sehr günstig ausgefallen.

Meine Untersuchungen umfassen ausschliesslich das Gas, das im Gaswerk in Christiania producirt wird, so wie es in den Gasleitungen in die Stadt geführt wird, unter anderen auch zur Universität. Aus obengenannten Gründen können meine Resultate nicht ohne Weiteres auf Leuchtgas übertragen werden, das von anderen Gaswerken geliefert wird, insbesondere nicht, was die schwefelhaltigen Verbrennungsproducte anbelangt. Deren Menge variirt nämlich erfahrungsgemäss ganz bedeutend selbst bei Gas, das von demselben Gaswerk zu verschiedenen Zeiten producirt wird.

Das Gas, das von dem Gaswerk in Christiania geliefert wird, hat nach Angaben, die von dem Chemiker des Gaswerks, Herrn Mejländer, herrühren, durchschnittlich folgende Zusammensetzung:

Wasserstoffgas	47	Volumprocent
Sumpfgas	36	»
Schwere Kohlenwasserstoffe und Benzol	4	»
Kohlenoxyd	8	»
Kohlensäure	2	
Stickstoff	2—3	»

Ausserdem finden sich kleine Mengen schwefelhaltiger Substanzen, z. B. Rhodanverbindungen, Senföl und Schwefelkohlenstoff. Die gesammte Schwefelmenge des Leuchtgases macht ca. 0,7 g bis 0,8 g pro m^3 aus, eine Grösse, die ziemlich constant bleibt.

Wenn ein Gemisch von Gasarten von solcher Zusammensetzung vollständig verbrennt, so bildet sich, abgesehen von der kleinen Menge Stickstoff, der wohl zum grössten Theil unverändert bleibt, ausschliesslich Kohlensäure, Wasserdampf und kleine Mengen schweflige Säure, welch' letztere in der feuchten Luft wahrscheinlich sehr bald in Schwefelsäure übergeht. Hierzu kommen noch Spuren von Oxyden des Stickstoffes, die sich erfahrungsgemäss bei jeder Verbrennung in der Luft bilden. Mit Rücksicht auf frühere Untersuchungen musste ich es ausserdem als möglich, ja wahrscheinlich ansehen, dass neben den genannten Substanzen, von denen die Kohlensäure und der Wasserdampf selbstverständlich immer die Hauptmenge der Verbrennungsproducte ausmachen werden, auch andere auftreten können, wenn das Leuchtgas eine mangelhafte Verbrennung erleidet.

Endlich konnte die Möglichkeit nicht ausgeschlossen werden, dass im Leuchtgas auch kleine Mengen anderer als der obengenannten Substanzen enthalten sind, welche bei den mit gewöhnlichen technischen Methoden ausgeführten Gasanalysen leicht der Aufmerksamkeit entgangen wären, besonders da sie auf die Leucht- oder Heizkraft des Gases keinen Einfluss üben, während sie doch in hygienischer Beziehung von Wichtigkeit wären. Es wäre z. B. möglich, dass das Leuchtgas Arsenverbindungen enthielte.

Nach den verschiedenen Stoffen, die sich unter den Verbrennungsproducten des Leuchtgases befinden konnten, und von deren Natur und Eigenschaften ich vorläufig nur unsichere Vermuthungen aufstellen konnte, einzeln zu suchen, würde, wie man leicht einsieht, eine unübersehbare Arbeit geben. Da ich ausserdem die grössten Schwierigkeiten, die sich der Lösung unserer Frage entgegenstellen, eigentlich vollständig entfernt haben würde, wenn ich den Beweis liefern könnte, dass das Leuchtgas in den

zu Beleuchtungszwecken gewöhnlich benutzten Brennern vollständig verbrennt, so wählte ich zu meinen Untersuchungen vorzugsweise solche Methoden, durch die ich nachweisen zu können hoffte, ob unter den Verbrennungsproducten ausser Kohlensäure, Wasser und schwefliger Säure auch andere Substanzen sich befänden.

Erst wenn ich entdeckte, dass dies wirklich der Fall wäre, wollte ich die betreffenden Substanzen zum Gegenstand genauerer Prüfungen machen, was ihre Wirkungen auf die Gesundheit und sonstige Eigenschaften anbelangt. Neben diesen mehr generell angelegten Untersuchungsmethoden hielt ich es ausserdem für nothwendig, auch andere in Anwendung zu bringen, die direct darauf ausgingen, gewisse Substanzen nachzuweisen, deren Gegenwart unter den Verbrennungsproducten des Leuchtgases entweder behauptet worden ist, oder deren Giftigkeit besondere Untersuchungen wünschenswerth machte. Solche Substanzen sind Kohlensäure, arsenige Säure, Blausäure, Ammoniak, Untersalpetersäure und andere in der Flamme entstandene Oxydationsproducte des Stickstoffes.

Bei meinen Untersuchungen benutzte ich drei Brenner von den am gewöhnlichsten im täglichen Leben gebrauchten Typen, einen Schnittbrenner, einen Argandbrenner und einen Auer v. Welsbach'schen Brenner. Mit jedem von diesen Brennern sind besondere Untersuchungsreihen angestellt worden. Der Brenner *F* (Fig. 1) wurde in einen cylinderischen Schornstein aus Eisenblech *A* hineingesetzt, der oben offen und unten bei *E* durch einen durchlöcherten Boden abgeschlossen war. Oben in dem engeren Theil des Schornsteins war bei *C* ein Tubulus angelöthet. Dieser war durch einen durchlöcherten Stöpsel verschlossen, durch welchen ein Messingrohr in den Schornstein bis an die gegenüberliegende Wand hineingeschoben war. Der in den Schornstein hineinragende Theil dieses Rohres war an der unteren Seite mit einer Reihe kleiner Löcher versehen. Durch dieses Rohr wurden Proben von der im Schornstein befindlichen,

mit Verbrennungsproducten gemischten Luft zur Untersuchung durch eine Wasserstrahlpumpe ausgezogen.

Der durchlöcherte Boden *E* des Schornsteins war mit dem Schornstein selbst nicht fest verbunden. Er war am Rande mit einer ein Paar Centimeter tiefen, mit Quecksilber gefüllten Rinne versehen, in die der untere Rand des Schornsteins hineinpasste. Der Boden ruhte auf einem eisernen Dreifuss. Zwischen den Beinen dieses Dreifusses, mit dem Boden des Schornsteins luftdicht verbunden, befand sich ein Cylinder aus Zinkblech, *B*, der sich nach unten in einem 4 bis 5 cm weiten Rohr, *G*, öffnete. Durch dieses Rohr geschah die Luftzufuhr zum Schornstein. Durch durchlöcherte Korkstöpsel regulirte ich die Luftzufuhr so, dass die Flamme eben noch klar und ruhig brennen konnte, ohne zu russen oder zu flackern. Das zum Brenner führende Gasleitungsrohr *D* war in der Wand des Blechcylinders luftdicht eingeschaltet. Der Raum *B* war ursprünglich dazu bestimmt, diejenigen Substanzen aufzunehmen, die dazu dienen sollten, die zugeführte Luft von Kohlensäure und Wasserdampf zu befreien. Als solche Substanzen benutzte ich Chlorcalcium und Natronkalk. Es zeigte sich aber sehr bald, dass diese Stoffe so oft gewechselt werden müssten, dass die dabei veranlassten Verluste an Zeit und Kosten in keinem Verhältnisse zu den gewonnenen Vortheilen standen, weshalb ich die Reinigung und das Trocknen der Luft aufgab in der Voraussetzung, ich könnte, wenn es sich als nothwendig herausstellen sollte, in irgend einer Weise Correctionswerthe für den Gehalt

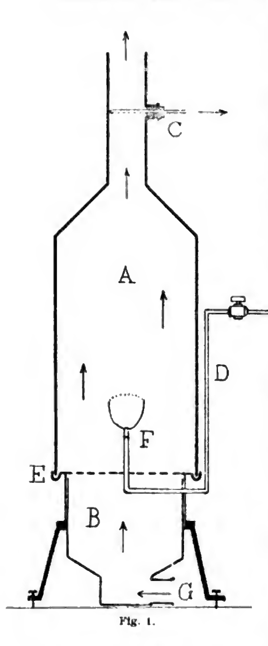


Fig. 1.

der Luft an Kohlensäure und Wasserdampf durch besonders darauf gerichtete Experimente herbeischaffen.

Die durch das Messingrohr bei *C* aus dem Schornstein entnommenen Luftproben wurden nun in verschiedener Weise behandelt. Hauptsächlich bestanden die Behandlungsweisen darin, dass die Luft vom Schornstein direct durch verschiedene Absorptionsmittel gesogen wurde. Die Absorptionsmittel waren meistens Chlorcalcium, Schwefelsäure, Natronkalk, Natronlauge, wie man sieht, Substanzen, die dazu geeignet waren, Wasser und flüchtige Säuren, wie Kohlensäure, schweflige und salpeterige Säure u. s. w. zu absorbiren. Meine Bestrebungen gingen nun theils darauf aus, zu untersuchen, ob die Luft, nachdem sie diese Absorptionsmittel passirt hatte, noch unverbrannte kohlenstoffhaltige Substanzen enthielt, theils untersuchte ich die Absorptionsmittel selbst, ob sie ausser Wasser, Kohlensäure und schweflige Säure, noch andere von der Gasverbrennung herrührende Substanzen, z. B. andere flüchtige Säuren enthielten.

Es wurden aber auch andere, für specielle Zwecke ausgearbeitete, Methoden, die ich an Ort und Stelle näher beschreiben werde, in Anwendung gebracht.

I. Prüfung auf unverbrannte, neutral reagirende Substanzen (Kohlenwasserstoffe und Kohlenoxyd).

Wenn Leuchtgas verbrennt, wird die Luft hauptsächlich mit Kohlensäure und Wasserdampf verunreinigt. Wir wissen, dass diese Verunreinigung nie bis zu einem solchen Grade steigt, dass sie gefährlich für die Gesundheit wird. Von weit grösserer Bedeutung in sanitärer Beziehung ist es, dass man gefunden hat, dass das Leuchtgas sowie andere Beleuchtungsmaterialien nicht vollständig verbrennen, sondern dass neben der Kohlensäure und dem Wasserdampf auch andere kohlenstoffhaltige Verbindungen, wie z. B. Kohlenwasserstoffe und vielleicht Kohlenoxyd gebildet werden. Ueber das Auftreten solcher Stoffe und den Grad der Verunreinigung der Luft mit denselben haben Erismann[1])

1) Zeitschr. f. Biologie, Bd. XII, S. 15.

und Cramer[1]) Untersuchungen angestellt. Erismann leitete einerseits eine Probe der Luft eines Zimmers, in dem die zu prüfenden Flammen (Stearinkerzen, Petroleum, Rüböl, Leuchtgas) brannten, durch Barytröhren und bestimmte den Kohlensäuregehalt der Luft. Andererseits leitete er eine mit dieser Probe möglichst gleich grosse und gleich zusammengesetzte erst durch glühendes Kupferoxyd, dann durch Barytröhren. Die Differenz zwischen den gefundenen Kohlensäuremengen betrachtete er als von einem Gehalte der Luft an unverbrannten, kohlenstoffhaltigen Substanzen herrührend und rechnete sie in Methan um. Er fand bei Gasbeleuchtung ganz bedeutende Mengen. Das Verhältnis $\frac{CH_4}{CO_2}$ schwankte zwischen $\frac{1}{3,6}$ und $\frac{1}{20,9}$. Wie gross die absoluten Mengen der gebildeten verbrannten und unverbrannten Gase waren, konnte er nicht ermitteln, da sie sich unregelmässig durch das Zimmer verbreiteten und zum weitaus grössten Theil durch die Ventilation aus dem Raume verschwanden. Nur etwa 3,4 % der berechneten Mengen waren in demselben geblieben, so dass der Gehalt der Luft an Kohlensäure nur 0,386 bis 1,82 ‰ betrug.

Um nun absolute Werthe für die aus einem gewissen Quantum eines Beleuchtungsmaterials (Petroleum, Paraffin, Stearinkerzen, Talg, Gas) gebildeten Mengen Kohlensäure und unverbrannten Substanzen zu bekommen, verglich Cramer die Kohlensäuremengen, die gebildet wurden, wenn die Beleuchtungsmaterialien beim Gebrauche von gewöhnlichen Lampen, Kerzen u. s w. in einem Respirationsapparate verbrannten mit den aus der verbrauchten Substanz und deren Elementaranalyse berechneten. Bei dem Respirationsversuche wurde immer ein kleines Deficit an Kohlensäure gefunden. Diese Methode, die grosse Anforderungen an die Genauigkeit der Elementaranalyse stellt, leidet ausserdem, was das Leuchtgas anbelangt, an dem Uebelstand, dass wegen der Inconstanz in der Zusammensetzung des

1) Archiv f. Hygiene, 1890, S. 283. Journal f. Gasbeleuchtung, 1891, Heft 1—4.

Leuchtgases, für jeden Versuch eine Elementaranalyse des verwendeten Gases ausgeführt werden müsste. Dies hat Cramer nicht gemacht, weshalb das Resultat seiner Untersuchung über das Gas mir weniger zuverlässig als seine übrigen scheint. Er fand für das Leuchtgas in Marburg

pro 1 g Substanz C zu CO_2 verbrannt.

Elementaranalyse	Respirationsversuche	Unvollst. verbrannt
0,663	647	0,016 (2,41%).

Die von Cramer gefundenen Mengen unverbrannter Substanzen relativ zur Kohlensäure sind also viel kleiner als sie Erismann fand.

Das Verfahren, dessen ich mich bei meinen eigenen Untersuchungen bediente, ist dem Erismann'schen sehr ähnlich, unterscheidet sich aber von demselben in mehreren wesentlichen Punkten. Erstens waren die Luftproben, die ich untersuchte, direct aus meinem Schornstein herausgenommen und folglich sehr reich an Verbrennungsproducten. Sie enthielten 1 bis 3% Kohlensäure, also circa zehnmal so viel davon als die von Erismann untersuchten. Zweitens nahm ich bei jedem Experimente, nicht wie Erismann zwei Proben, sondern nur eine in Arbeit. Die Fehlerquelle, die in der Ungleichheit zweier Proben liegt, ist also ausgeschlossen. Endlich waren meine Proben viel grösser als Erismann's.

Mein Verfahren war im Einzelnen folgendes: Die aus dem Schornstein herausgesogene Luft passirte zuerst durch ein Kugelrohr (Fig. 2), in dem das gebildete Wasser zum grössten Theil verdichtet wurde, weiter durch ein U-förmiges Chlorcalciumröhrchen, dann durch zwei bis drei U-förmige Natronkalkröhren und endlich durch noch ein kleines Chlorcalciumröhrchen. Dass ich nicht wie Erismann zur Absorption der Kohlensäure Barytwasser, sondern Natronkalk verwendete, kommt daher, dass ich bei meinen Versuchen so grosse Mengen Kohlensäure absorbiren musste, dass die Anwendung des Barytwassers dabei unbequem sein würde. Der Natronkalk nimmt dagegen bei kleinem Volum

eine grosse Menge Kohlensäure und zumal mit grosser Begierde auf.[1])

In den genannten Röhren wurde alles in der Luft enthaltene Wasser und alle Kohlensäure zurückgehalten. Die so gereinigte Luft wurde dann weiter durch ein mit glühendem Kupferoxyd gefülltes Verbrennungsrohr geleitet. An dieses reihten sich weiter andere Absorptionsapparate für Wasser und Kohlensäure, zuerst ein Geissler'scher Caliapparat mit concentrirter Schwefelsäure gefüllt, dann ein U-förmiges Röhrchen mit Natronkalk, drittens ein Geissler'scher Apparat mit Natronlauge und endlich ein gleicher mit concentrirter Schwefelsäure. Ursprünglich verwendete ich hier ausschliesslich trockene Absorptionsmittel, Chlorcalcium und Natronkalk. Ich hatte aber dabei durch Zerstäuben derselben so grosse Verluste, dass ich sie durch die flüssigen ersetzte. Die sowohl vor wie nach dem Kupferoxydrohr absorbirten Mengen Wasser und Kohlensäure wurden durch Wägung bestimmt.

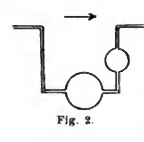


Fig. 2.

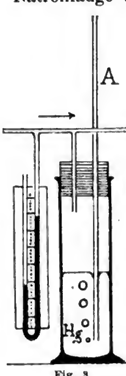


Fig. 3.

Zwischen der letzten Reihe von Absorptionsapparaten und der Saugpumpe war ein Quecksilberventil mit Manometer eingeschaltet, durch welches erreicht wurde, dass die in der Leitung bei dem Saugen hervorgebrachte Druckverminderung sich auf constantem Niveau hielt. Diese Vorrichtung, die aus Fig. 3 ohne weitere Erklärung ersichtlich ist, ist eine wohlbekannte. Der Luftstrom wurde in die Richtung der Pfeile geführt. Die Druckverminderung, die auf dem Manometer in Millimetern abgelesen wurde, konnte durch Auf- und Abschieben des Rohres *A*, das frei in die Luft mündete, nach Belieben regulirt werden.

Ursprünglich versuchte ich die Gesammtmenge der durchgezogenen Luft durch eine Gasuhr zu messen. Es zeigte sich

1) Fresenius. Quant. Analyse, Bd. II, S. 45.

aber, dass dies nicht möglich war und zwar, wie es schien, wegen des grossen Widerstandes, den der Luftstrom in der langen Reihe von verschiedenen Apparaten zu überwinden hatte.

Die Luft wurde vor dem Kupferoxydrohre mit Chlorcalcium getrocknet, nach dem Passiren desselben mit Schwefelsäure, welche letztere Wasser begieriger anzieht als Chlorcalcium. Daher rührt es, dass der erste Geissler'sche mit Schwefelsäure gefüllte Apparat immer eine Gewichtszunahme erfahren hat, welche also nicht eine im Kupferoxydrohr vor sich gegangene Verbrennung von wasserstoffhaltigen Substanzen anzudeuten braucht. Dass die Luft nicht auch vor dem Kupferoxydrohre mit Schwefelsäure getrocknet wurde, ist darin begründet, dass die Schwefelsäure das Vermögen besitzt, Kohlenwasserstoffe zu absorbiren. Wären also unter den Verbrennungsproducten unverbrannte Kohlenwasserstoffe, so würden diese in der Schwefelsäure zurückgehalten werden und nicht zur Verbrennung in dem Kupferoxydrohre gelangen.

Bei dieser Methode hoffte ich alle nicht oder nur unvollständig verbrannten, neutral reagirenden, kohlenstoffhaltigen Substanzen, welche sich unter den Verbrennungsproducten befänden, nachweisen zu können, namentlich alle Kohlenwasserstoffe und Kohlenoxyd. Dass diese Hoffnung berechtigt gewesen ist, zeigen die Resultate. Zuweilen nämlich, wenn die Gasflammen im Inneren des Schornsteins russten, bildeten sich solche unverbrannte, flüchtige Substanzen, welche sich sofort kennzeichneten durch eine Gewichtszunahme der drei letzten Absorptionsapparate.

Es wurde in dieser Weise eine lange Reihe von Experimenten angestellt. Jeder der drei bei meinen Versuchen benutzten Brenner wurde einer besonderen Prüfung unterworfen. Ausserdem wurde eine Reihe Controlversuche angestellt, die genau in derselben Weise wie die übrigen vorgenommen waren, nur mit dem Unterschied, dass im Schornstein kein Brenner angezündet war. Der Zweck dieser Versuche war, die Feinheit und Zuverlässigkeit der Methode zu prüfen.

Ich lasse hier die gewonnenen Resultate in tabellarischer Uebersicht folgen.

Die Zahlenreihe II gibt die Dauer des Versuchs in Stunden und Minuten an, Reihe III den durch das Saugen hervorgebrachten, auf dem Manometer in Millimetern Quecksilber abgelesenen negativen Druck. Die Reihen IV und V enthalten die Gewichtsmengen Wasser und Kohlensäure, die der Luft entzogen waren, bevor sie zum Kupferoxydrohr gelangte. Die Reihen VI und VII enthalten die Mengen Wasser und Kohlensäure, die durch Wägen und Zurückwägen der zweiten Reihe Absorptionsapparate gefunden wurden. Die Gewichtsmengen sind überall in Milligramm angegeben.

Brenner	Nr.	I	II		III	IV	V	VI	VII	Bemerkungen
		Datum	Zeitdauer		Negativer Druck	Vor dem Kupferoxydrohr		Nach dem Kupferoxydrohr		
			Std.	Min.	mm Hg	H_2O mg	CO_2 mg	H_2O mg	CO_2 mg	
Schnittbrenner.	1	14. VI.	6	20	43	?	1483,6	+ 17,9	+ 0,3	
	2	15. VI.	7	0	42	1872,9	1594,7	27,3	— 0,9	
	3	19. VI.	7	6	44	1604,9	1442,7	26,3	— 7,1	
	4	20. VI.	5	59	45	1516,4	1420,0	23,4	+ 2,2	
	5	24 VI.	5	50	43	728,3	645,1	9,7	— 3,5	
	6	27. VI.	5	0	53	1327,7	1046,6	19,1	— 1,3	
	7	29. VI.	7	53	56	1534,8	1216,6	22,3	— 3,3	
	8	30. VI.	7	33	78	2072,2	1618,5	24,8	+ 1,6	
	9	1. IX.	7	15	68	1601,6	1409,7	28,8	+ 2,6	
	10	4. IX.	7	4	49	948,1	834,4	263,1	+ 56,6	Die Flamme russte.
	11	6. IX.	5	43	78	?	?	11,3	— 1,6	
	12	8. IX.	7	34	78	1639,7	1648,4	32,6	+ 1,6	
	13	9. IX.	7	32	78	1663,9	1621,7	38,8	+ 4,9	
	14	12. IX.	7	36	78	2766,5	2358,2	42,6	+ 0,2	
	15	13 IX.	8	3	74	3410,2	2922,2	45,0	+ 7,7	
	16	15. IX.	9	31	55	1400,9	1239,7	17,7	— 4,0	
	17	16. IX.	8	10	60	1271,3	1144,6	19,8	+ 5,4	
Argandbrenner.	18	19. IX.	7	52	56	837,3	697,1	57,6	+ 22,9	Die Flamme russte.
	19	20. IX.	ca. 7	30	73	1436,3	1183,8	23,1	+ 5,5	Die Flamme russte kurze Zeit.
	20	21. IX.	7	45	73	2211,1	1847,9	35,6	+ 0,1	
	21	29. IX.	7	0	94	1427,5	1205,4	22,5	+ 3,2	
	22	2. X.	8	34	ca. 100	1522,0	1203,4	28,3	+ 7,3	Die Flamme russte mehrmals.
	23	3. X.	6	20	107	1928,2	1529,2	36,1	— 1,6	
	24	4. X.	8	9	ca. 105	1694,9	1384,2	28,8	+ 1,7	

Brenner	Nr.	I Datum	II Zeitdauer Std.	II Zeitdauer Min.	III Negativer Druck	IV Vor dem Kupferoxydrohr H_2O mg	V Vor dem Kupferoxydrohr CO_2 mg	VI Nach dem Kupferoxydrohr H_2O mg	VII Nach dem Kupferoxydrohr CO_2 mg	Bemerkungen
					mm Hg					
Argandbrenner.	25	5. X.	7	58	80	1292,5	1030,9	29,8	+ 2,0	
	26	6. X.	6	0	114	1558,7	1288,9	25,6	— 0,2	
	27	9. X.	6	47	107	2176,3	1768,2	50,3	+ 0,5	
	28	10. X.	6	25	109	2004,8	1591.4	60,7	+ 2,6	
	29	11. X.	6	22	109	2203,3	1781,1	58,5	— 2,0	
	30	12. X.	8	10	111	2398,5	1962,9	74,5	+ 0.5	
Auer v. Welsbach's Brenner.	31	13. X.	6	47	111	1951,9	1571,4	56,6	— 2,1	
	32	14. X.	7	15	110	2049,4	1669,0	74,0	+ 4,1	
	33	16. X.	7	29	110	2279,2	1928,3	53,7	+ 10,5	
	34	17. X.	7	50	110	2169,5	1896,1	52,3	— 2,8	
	35	18. X.	8	16	110	2302,3	2007,2	83,1	+ 21,2	
	36	19. X.	7	47	105	2054,9	1694,9	75,8	+ 9,6	
	37	20. X.	6	34	107	1593,2	1347,2	61,0	+ 3,0	Reichlichere Gaszufuhr zum Brenner.
	38	21. X.	6	18	110	?	1260,6	41,3	+ 3,3	
	39	23. X.	6	50	110	1392,4	1236,0	39,6	+ 5,5	
	40	24. X.	7	11	110	1352,2	1095,2	35,1	+ 22,3	
	41	27. X.	6	31	110	2345,0	2000,7	53,4	+ 10,0	Die Löcher des Brenners aufgebohrt.
	42	28. X.	6	20	110	2358,8	1973,6	55,8	+ 14,4	
	43	30. X.	6	39	110	2203,6	1890,3	39,5	+ 14,2	
	44	31. X.	7	29	110	2280,1	1970,5	41,9	+ 23,4	
Kein Brenner (Controlproben).	45	16. VI.	6	0	42	168,2	28,6	21,6	— 2,0	
	46	21. VI.	6	5	43	8,4	14,5	22,8	+ 3,7	
	47	28. VI.	7	32	52	151,8	21,6	19,6	+ 3,1	
	48	1. VII.	7	40	78	174,0	11,7	29,1	+ 4,2	
	49	11. IX.	8	5	78	164,7	25,1	33,9	+ 2,1	
	50	14. IX.	7	33	55	78,4	15,4	13,8	— 3,8	
	51	23. IX.	7	47	73	151,3	12,7	24,8	+ 0,3	
	52	25. IX.	7	2	75	86,0	12,7	16,7	+ 2,1	
	53	26. IX.	6	37	74	57,6	15,7	24,9	+ 2,0	
	54	27. IX.	6	38	60	52,9	9,1	11,7	+ 1,4	

Ein Vergleich zwischen den bei den Versuchen und Controlproben gefundenen Zahlen der Reihen IV und V zeigt, dass die gewogenen Mengen Wasser und Kohlensäure (+ schwefliger Säure) zum weitaus grössten Theil von dem verbrannten Leuchtgase und nur in geringer Menge von der atmosphärischen Luft herrühren, so dass der Fehler der dadurch verursacht wurde,

dass die Luft vor dem Eintritt in den Schornstein nicht getrocknet und von Kohlensäure befreit wurde, der Beweiskraft der Versuchsresultate keinen Abbruch thut.

Die Zahlen der Reihe VI haben aus den oben besprochenen Gründen keine weitere Bedeutung. Ein Vergleich zwischen den bei den Versuchen und Controlproben gefundenen Zahlen dieser Reihe zeigt, dass die Gewichtszunahme in beiden Fällen durchschnittlich gleich gross ist und also nicht als ein Beweis dafür gelten darf, dass unter den Verbrennungsproducten sich unverbrannte wasserstoffhaltige Substanzen (z. B. Ammoniak) befänden.

Wir wollen vorzugsweise unsere Aufmerksamkeit auf die Zahlen der letzten Reihe lenken und zwar zuerst auf die bei den Controlproben gefundenen. Die positiven Vorzeichen zeigen eine Zunahme und die negativen eine Abnahme an Gewicht der Kohlensäureabsorptionsapparate an. Wäre die Methode von idealer Genauigkeit, so würde man hier selbstverständlich weder eine Zu- noch eine Abnahme bekommen. Die gefundenen Zahlen zeigen also die unvermeidlichen Fehler der Methode an. Sie liegen zwischen rund $\pm$ 4 mg. Sie scheinen nicht von den aus dem Schornstein herausgezogenen Luftmengen oder von den darin enthaltenen Mengen Wasser und Kohlensäure in irgend welcher Weise abhängig zu sein, weshalb ich auch keinen brauchbaren Correctionsfactor daraus berechnen konnte.

Ganz ähnliche Schwankungen zeigen die Zahlen der letzten Reihe bei den Versuchen mit dem Schnittbrenner und dem Argandbrenner. Abgesehen von den Versuchen bei denen die Gasflamme gerusst hat, wobei sich ziemlich grosse Mengen unverbrannter kohlenstoffhaltiger Substanzen gebildet haben, zeigen nur 3 Versuche mit dem Schnittbrenner eine 4 mg überschreitende Gewichtszunahme der Absorptionsapparate für Kohlensäure nämlich Nr. 13, 15 und 17. Die Zunahmen liegen aber sehr nahe an der Fehlergrenze und sind überhaupt so klein, dass wir sie, wie wir später sehen werden, ganz unberücksichtigt lassen dürfen.

Im Grossen und Ganzen dürfen wir deshalb den Schluss ziehen, dass der Schnittbrenner und der

Argandbrenner keine flüchtigen neutral reagirenden unverbrannten kohlenstoffhaltigen Substanzen, wie Kohlenwasserstoffe oder Kohlenoxyd geliefert haben.

Bei dem Auer v. Welsbach'schen Brenner verhält sich dies aber etwas anders. Bei den mit diesem Brenner angestellten Versuchen bekam ich häufig eine nicht unerhebliche Gewichtszunahme der zur zweiten Reihe gehörenden Kohlensäureabsorptionsapparate. Ich glaubte, dass dies daher rührte, dass die Gaszufuhr zu dem Brenner zu klein war um den Mantel des Brenners zum starken Glühen zu erhitzen. Reichlichere Zufuhr von Gas schien aber nicht zu helfen (Vers. 37—40).

Ich bohrte dann die Gasausströmungsöffnungen des Brenners etwas grösser. Dabei gerieth zwar der Mantel in stärkeres Glühen und leuchtete besser, die Versuchsergebnisse aber schienen sich im Gegentheil zu verschlechtern (Vers. 41—44).

Es geht aber hieraus hervor, dass der Auer von Welsbach'sche Brenner häufig kleine Mengen unverbrannter, kohlenstoffhaltiger Substanzen lieferte. Im Versuch 40 wurde die im Verhältnis zu der gebildeten Kohlensäure grösste Menge von solchen Substanzen gefunden. Bei diesem Versuch sind ca. 2 % des im Leuchtgase enthaltenen Kohlenstoffes durch den Brenner gegangen ohne zu Kohlensäure verbrannt zu werden. Die Ursache, weshalb dies geschah, ist wahrscheinlich darin zu suchen, dass die Flamme durch den leuchtenden Mantel etwas abgekühlt wurde, so dass die Hitze zu klein war um eine vollständige Verbrennung des Gases herbeiführen zu können. Ein Stütze für diese Annahme sehe ich darin, dass der Mantel sich mit Russ belegte.

Was diese unverbrannte Substanz gewesen ist, ob z. B. ein Kohlenwasserstoff oder Kohlenoxyd, darüber geben die Versuche keine Aufklärung. Wir wollen annehmen, dass sie ausschliesslich aus Kohlenoxyd bestanden haben. Eine Annahme, die weniger zu Gunsten der Gasbeleuchtung spricht, können wir kaum machen, da dieses Gas eines der gefährlichsten Gifte ist, die wir überhaupt kennen. Nehmen wir weiter an, dass die Verunreinigung der Luft mit Kohlensäure in einem mit Gas

beleuchtetem Zimmer bis zu einem Volumprocent steigen könne, eine so hochgradige Verunreinigung, dass sie, wie wir später sehen werden, in einem Wohnzimmer kaum eintreten wird, wenigstens nicht in Folge der Gasbeleuchtung. Da nun das Kohlensäure- und das Kohlenoxydmolekül beide dasselbe Volumen einnehmen, so würde bei der Benützung von Auer von Welsbach'schen Brennern die Zimmerluft nie über 0,02 Volumprocent Kohlenoxyd enthalten können.

Wir wissen aber, dass das Kohlenoxyd, wenn es in so hochgradiger Verdünnung der Luft beigemischt ist, seine giftigen Eigenschaften nicht mehr entfalten kann. In das Blut von Thieren, die in solcher Luft geathmet haben, scheint das Kohlenoxyd nicht mehr aufgenommen zu werden. Wenigstens lässt es sich nicht mehr darin nachweisen. Die Grenze der Nachweisbarkeit mittelst Blut liegt bei einem Kohlenoxydgehalte der Luft von 0,03 % und die Grenze der Giftigkeit derselben bei 0,05 %.[1])

Da nun das Kohlenoxyd eines der gefährlichsten Gifte ist, die wir kennen, so brauchen wir kaum die gefundene also unverbrannte Substanz als gesundheitsschädlichen Factor zu fürchten, ein Schluss, denn ich bei meinen später mitzutheilenden Thierversuchen völlig bestätigt fand.

Die Resultate meiner Versuche stellen sich also im Grossen und Ganzen viel günstiger als die Erismanns und Cramers. Der Grund hierzu ist wohl kaum in Verschiedenheiten der benutzten Gase zu suchen. Ein Vergleich der Resultate, die ich bei meinen Versuchen mit dem Schnitt- und Argandbrenner einerseits und dem Auer'schen Brenner andererseits erhielt, macht es im Gegentheil viel wahrscheinlicher, dass die Construction der Brenner der einzige Eactor ist, der für die mehrweniger vollständige Verbrennung des Gases bestimmend ist. Bei dieser Annahme wird auch ein Umstand erklärt, den ich selbst wiederholt zu constatiren Gelegenheit gehabt habe, nämlich der, dass ein und dasselbe Leuchtgas in einem Lokale den

1) **Hempel.** Gasanalytische Methoden

bekannten unangenehmen Geruch nach Acetylen verbreitet, nicht aber in einem anderen. Auch im Laboratorium habe ich wiederholt beim Gebrauch von Gasöfen denselben Geruch sehr lästig empfunden, während ich ihn beim Gebrauch von gewöhnlichen Bunsen- oder Leuchtbrennern gar nicht wahrgenommen habe.

Vom hygienischen Standpunkte aus scheint eine vollständige Verbrennung des Gases wünschenswerth. Dass dies auch erzielt werden kann, darf ich nach obigem behaupten. Welche aber die Eigenschaften der in dieser Beziehung guten oder schlechten Brenner sind, mag bis weiter dahin gestellt bleiben. Eine eingehende Auseinandersetzung dieser Frage würde wahrscheinlich viele Arbeit in Anspruch nehmen. Die Versuche mit dem Auer'schen Brenner, die ohne merkbare Verschiedenheiten äusserer Verhältnisse doch verschiedene Resultate gaben, scheinen dafür zu sprechen, dass sogar ganz geringfügige äussere Einflüsse genügen um eine unvollständige Verbrennung zu bedingen. Von vorn herein konnte man deswegen auch vermuthen, dass selbst anscheinend unwesentliche Verschiedenheiten in der Construction der Brenner für die mehr-weniger vollständige Verbrennung bestimmend seien.

II. Prüfung auf flüchtige Säuren.

Der Verdacht, dass sich bei der Verbrennung des Leuchtgases ausser schwefliger Säure und Kohlensäure auch andere flüchtige, sauer reagirende Verbindungen bildeten, konnte von vorn herein nicht ausgeschlossen werden. Solche flüchtige Säuren würden bei den eben besprochenen Versuchen mit der gebildeten Kohlensäure in den Natronkalkröhren absorbirt worden sein, und wären also als unverbrannte Producte der Verbrennung des Leuchtgases nicht zum Vorschein gekommen. Ich hielt es deswegen für nöthig, besondere Untersuchungen über das mögliche Auftreten solcher saueren Verbindungen anzustellen.

Mein Verfahren war folgendes. Die mit Verbrennungsproducten gemischte Luft wurde von dem Schornstein aus durch eine etwa 25 cm hohe Waschflasche (Fig. 4) gesogen, die mit

dem Röhrchen *C* des Schornsteins verbunden war. In der Waschflasche befand sich eine abgemessene Menge einer titrirten Kalilauge, die auf eine ebenfalls titrirte Oxalsäurelösung gestellt war. Anfangs reihte ich zwei solche Waschflaschen an einander. Da es sich aber bald zeigte, dass von schwefliger Säure niemals eine Spur in der zweiten Waschflasche nachzuweisen war, liess ich schliesslich die zweite Waschflasche ganz weg und sorgte nur dafür, dass in der ersten ein genügender Ueberschuss von Lauge vorhanden war. Das Durchsaugen der Luft und die Regulirung des Luftstromes geschah ganz in derselben Weise wie es in der Beschreibung der vorigen Versuchsreihe dargestellt ist. Die Versuche dauerten alle von einem Vormittag bis zum anderen, somit 20 bis 22 Stunden.

Fig. 4.

Die in der Waschflasche befindliche Lauge wurde dabei vollständig mit Kohlensäure gesättigt. Ausserdem wurde in derselben alle mit der Luft hineingeleitete schweflige Säure zurückgehalten.

Nach Beendigung des Versuches wurde die Lauge in eine Erlenmeier'sche Kochflasche hineingespült und in dieser mit der Oxalsäurelösung unter stetigem Auskochen der Kohlensäure zurücktitrirt. Als Indicator diente Rosolsäure. Damit nicht mit der Kohlensäure auch andere flüchtige Säuren weggekocht werden sollten, wurde immer Obacht gegeben, dass die Oxalsäure nie im Ueberschuss zugesetzt wurde, sondern allmählich unter häufigem Aufkochen, so dass der Neutralisationspunkt erreicht wurde, ohne dass die Flüssigkeit sauer reagirte ausser durch Kohlensäure. Noch grösserer Sicherheit halber wurde ausserdem die Vorsichtsmaassregel getroffen, dass der Kolben immer während des Kochens mit einem Rückflusskühler verbunden wurde.

Nach dem Titriren wurde die schweflige Säure mit Bromsalzsäure oxydirt und als schwefelsaurer Baryt ausgefällt und gewogen. Da die Schwefelsäure und die schweflige Säure beide zweibasische Säuren sind, war es für die Titrirung gleichgültig ob die eine oder die andere von der Lauge gebunden war. Deswegen konnte ich die Lauge, die sich bei der Titrirung als von

flüchtigen Säuren gebunden zeigte, auf H_2SO_4 berechnen und die so gefundene Menge mit der bei der Gewichtsbestimmung gefundenen vergleichen. Wäre nun bei dem titrimetrischen Verfahren eine grössere Menge Schwefelsäure gefunden worden, als bei dem gewichtsanalytischen, so wäre dies ein Zeichen gewesen, dass sich ausser der schwefligen Säure und Kohlensäure unter den Verbrennungsproducten auch andere flüchtige Säuren befänden. Die zwei Bestimmungen stimmten aber so genau überein, dass ich die Gegenwart irgend erheblicherer Mengen von flüchtigen Säuren als ausgeschlossen erklären darf. Die Abweichungen sind so klein, dass sie eine hinlängliche Erklärung durch die bei solchen Bestimmungen unvermeidlichen Ungenauigkeiten finden. Ueber die Gegenwart von äusserst kleinen Mengen solcher Säuren gibt aber die Methode grade wegen dieser Ungenauigkeiten keinen Aufschluss, was zu beachten ist, wenn wir das Vorkommen von salpetriger Säure und Salpetersäure besprechen werden.

Brenner	Datum	mg H_2SO_4 gefunden		Differenz (titrim. + oder ÷)
		titrimetrisch	gewichtsanalytisch	
Schnittbrenner	25.—26. X.	161,2	159,7	+ 1,5
	1.— 2. XI.	93,2	91,6	+ 1,6
	2.— 3. XI.	51,4	50,4	+ 1,0
	3.— 4. XI.	38,7	34,6	+ 4,1
	4.— 5. XI.	13,5	14,5	÷ 1,0
	6.— 7. XI.	83,0	82,0	+ 1,0
Argandbrenner	8.— 9. XI.	41,7	40,8	+ 0,9
	9.—10. XI.	57,1	54,8	+ 2,3
	10.—11. XI.	32,0	30,8	+ 1,2
	14.—15. XI.	52,9	51,3	+ 1,6
	15.—16. XI.	98,1	98,3	— 0,2
Auer v. Welsbach's Brenner	19.—20. X.	38,0	37,6	+ 0,4
	21.—22. X.	54,8	54,8	± 0,0
	23.—24. X.	52,9	52,1	+ 0,8
	24.—25. X.	31,9	32,3	— 0,4
	27.—28. X.	27,7	27,4	+ 0,3
	28.—29. X.	45,6	45,4	+ 0,2
	30.—31. X.	66,1	67,1	— 1,0

Um die Zuverlässigkeit der Methode zu prüfen, führte ich Titrirungen unter Zusatz von salpetrigsauren und salpetersauren Alkalien aus. Es wurde dabei Oxalsäure in Ueberschuss zugesetzt und das Kochen längere Zeit ohne Rückflusskühler fortgesetzt. Trotzdem war aber von den Säuren der zugesetzten Salze nichts ausgetrieben. Die nach ausgeführter Titrirung verbrauchten Mengen von Oxalsäure stimmten auf 0,05 bis 0,1 ccm mit den aus dem gegenseitigen Titer der Säure und Lauge berechneten Mengen (1 ccm Säure = 1,311 ccm Lauge. 0,1 ccm Lauge = 0,0007 gr HNO_2).

Soweit ich sehen kann, gibt es nur eine einzige Säure, die bei diesem Verfahren der Aufmerksamkeit entgehen konnte, nämlich die Blausäure. Diese ist bekanntlich eine schwächere Säure als die Kohlensäure und würde deshalb von dieser aus der titrirten Lauge ausgetrieben sein. Da nun einerseits das Leuchtgas Cyanverbindungen enthält und andererseits die Gegenwart von Blausäure unter den Verbrennungsproducten des Leuchtgases behauptet worden ist, schien es mir von Wichtigkeit nachzuweisen, ob den Verbrennungsproducten Bläusäure beigemischt wäre.

Wäre nun dies der Fall, so müsste sie bei den im vorigen Kapitel beschriebenen Versuchen von dem Natronkalk aufgenommen sein. Dieser war nämlich immer in genügendem Ueberschuss vorhanden, um sowohl die Kohlensäure als auch grössere Mengen Blausäure zu binden. Wenn letztere wirklich zugegen gewesen wäre, dann müsste sie aber in dem Natronkalk nachzuweisen sein.

Bei mehreren der mit dem Auer v. Welsbach'schen Brenner angestellten Versuchen hob ich deswegen den benutzten Natronkalk zur Untersuchung auf. In demselben waren alles in allem 14,5 g Kohlensäure, also eine ziemlich grosse Menge, absorbirt. Mit den zwei anderen Brennern stellte ich besondere auf Blausäure gerichtete Untersuchungen an. Sie wurden ganz in derselben Weise ausgeführt. Die Luft wurde aus dem Schornstein zuerst durch ein Chlorcalciumrohr, dann durch mehrere Röhren mit Natronkalk gesogen. Der Versuch wurde unterbrochen,

während noch viel ungesättigter Natronkalk vorhanden war. Bei dem Versuch mit dem Argandbrenner wurden 16,7 g und mit dem Schnittbrenner 14,2 g Kohlensäure gesammelt und gewogen.

Nachdem nun der Natronkalk aus den Glasröhren herausgenommen war, wurde er in einem Porzellanmörser mit Wasser fein zerrieben und dann in einen hohen Glascylinder gebracht, wo der ungelöst gebliebene kohlensaure Kalk sich zu Boden setzte. Die überstehende klare Lösung wurde abpipettirt und mit den in Fresenius qualitativer Analyse, S. 269—270, unter 6 und 7 angeführten Reactionen auf Bleisäure geprüft. Bei der ersten dieser Reactionen wird die Blausäure als Berlinerblau gefällt. Diese Reaction hatte immer ein negatives Ergebnis. Bei der zweiten Reaction wird die Blausäure in Rhodanalcali übergeführt und als solche durch Eisenchloridzusatz nachgewiesen. Bei dieser Reaction bekam ich zuweilen eine Rothfärbung, aber so schwach und überhaupt von so zweifelhaftem Charakter, dass ich mich nicht berechtigt halte, die Blausäure als nachgewiesen zu erklären.

Der Sicherheit wegen wurde auch das zur Austrocknung der Luft benutzte Chlorcalcium in derselben Weise der Prüfung unterworfen. Das Resultat war in jeder Beziehung dasselbe.

Eine flüchtige Säure, deren Bildung bei Gasverbrennung unvermeidlich ist, ist die schweflige Säure. Man darf wohl behaupten, dass diese, falls sie nicht in allzu grossen Mengen auftritt, für die Gesundheit kaum schädlich ist.[1]) Es kam mir trotzdem als eine Pflicht vor, die Mengen der bei der Gasbeleuchtung gebildeten schwefligen Säure näher zu bestimmen. Dies habe ich gethan und zwar im Verhältnis zu den übrigen Verbrennungsproducten des Leuchtgases. — Der Luftstrom wurde vom Schornstein (in welchem ein Schnittbrenner) durch eine Reihe von Waschfläschchen (Fig. 5) geleitet, in denen alle Verbrennungsproducte, Kohlensäure, Wasser und schweflige Säure zurückgehalten wurden. Die Durchleitung dauerte von dem einen

1) Ueber die Giftigkeit der schwefligen Säure cfr. Boehm, Niemeyer und Boeck: Handbuch der Intoxicationen. Weiter: Lehmann, Archiv für Hygiene, Bd. XVIII, S. 180.

Vormittag bis zum anderen. Die erste Waschflasche enthielt dünne, schwefelsäurefreie Kalilauge, reichlich genug, um alle schweflige Säure zu binden. Erfahrungsgemäss wurde keine Spur dieser Säure bis in die nächste Waschflasche mitgeführt. Die folgenden vier bis fünf Waschflaschen enthielten eine starke Natronlauge, in welcher alle Kohlensäure absorbirt wurde. Dann folgten noch zwei bis drei mit concentrirter Schwefelsäure gefüllte.

Die sämmtlichen Flaschen wurden vor und nach dem Versuch gewogen und die Zunahme gab dann das Gewicht der gesammten Verbrennungsproducte an. Darauf wurde die erste Flasche in einen Messkolben von 200 ccm Inhalt entleert, mit destillirtem Wasser nachgespült und die Flüssigkeit schliesslich bis zur Marke des Messkolbens verdünnt.

Fig. 5.

Die eine Hälfte der Lösung wurde mit Bromsalzsäure behandelt und mit Chlorbarium gefällt. Der schliesslich gewogene schwefelsaure Baryt wurde in schweflige Säure (SO_2) umgerechnet.

Die andere Hälfte der Lösung wurde zur vorläufigen Prüfung auf Oxydationsproducte des Stickstoffs in folgender Weise weiter verarbeitet. Sie wurde mit Schwefelsäure angesäuert, dann mit einer Lösung von übermangansaurem Kali bis zur starken Rothfärbung versetzt und auf dem Wasserbade erwärmt, um alle stickstoffhaltigen Oxydationsproducte in Salpetersäure überzuführen. Darnach wurde die Flüssigkeit mit Oxalsäurelösung entfärbt, mit Kalilauge schwach alkalisch gemacht und bis fast zum Trocknen eingedampft. Der Rückstand wurde mit mehreren der in Fresenius qualitativer Analyse, S. 282, angeführten Reactionen auf Salpetersäure geprüft. Zur Anwendung kamen vorzugsweise die sub. 6 und 9 angeführten.

Von diesen hatte die erste, die gewöhnliche Reaction, mit concentrirter Schwefelsäure und Eisenvitriollösung zuweilen ein sehr schwaches positives Ergebnis, am häufigsten aber ein negatives. Letzteres war bei der anderen, sub. 9 angeführten Reaction,

die auf einer durch Nitrirung des Phenols auftretenden braunen Farbe beruht, immer der Fall.

Die Zuverlässigkeit der in dieser Weise ausgeführten Prüfung auf Salpetersäure habe ich derart dargethan, dass ich die ganze Prozedur mit den Reagenzien allein, und zwar mit den bei dem oben geschilderten Verfahren gebrauchten Mengen derselben unter Zusatz von bekannten Mengen salpetrigsauren Natrons durchgemacht habe. Wenn die Flüssigkeit im Ganzen nur noch 1 mg N_2O_3 enthielt, bekam ich mit Schwefelsäure und schwefelsaurem Eisenoxydul, eine scharf ausgesprochene, ohne Zusatz von Nitrit aber keine Spur einer Reaction.

Es geht hieraus hervor, dass Oxydationsproducte des Stickstoffs, wenn überhaupt, dann in sehr geringen Mengen zugegen gewesen sind.

Nachstehende Tabelle gibt die Resultate der Bestimmungen der schwefligen Säure und den Ausfall der Prüfungen auf Salpetersäure.

Aus den gefundenen Zahlen ist ersichtlich, dass der Schwefelgehalt des Leuchtgases in Christiania keinen erheblicheren Schwankungen unterworfen ist.

Datum	Verbrennungsproducte gewogen g	Gefunden SO_2 mg	1 g Verbrennungsproducte entspricht SO_2 mg	Ergebnis der Prüfung auf Salpetersäure
17.—18. IX.	9,0357	6,5	0,71	Keine HNO_3.
22.—23. IX.	4,6660	4,1	0,87	Keine HNO_3.
25.—26. IX.	4,9461	5,1	1,03	Zweifelhafte Spuren.
26.—27. IX.	6,2664	6,4	1,02	Zweifelhafte Spuren.
28.—29. IX.	5,0982	5,7	1,11	Keine HNO_3.
4.— 5. X.	12,1012	12,4	1,03	Sehr schwache Spuren.
5.— 6. X.	14,5976	13,5	0,92	Schwache Spuren.
8.— 9. X.	7,1579	6,4	0,90	Keine HNO_3.
9.—10. X.	16,5579	14,8	0,90	Keine HNO_3.
10.—11. X.	11,4709	10,7	0,93	Keine HNO_3.
		Mittel	0,942	= 0,328 ccm [1]) SO_2 bei 0° C. und 760 mm Hg-druck gemessen.

1) Landolt und Börnstein: Tabellen 1894, S. 116.

Bei Verbrennung dieses Gases kommen im Mittel auf 1 g Verbrennungsproducte 0,328 ccm SO_2-Gas, bei 0° C. und 760 mm Quecksilberdruck gemessen. Bei diesen Bestimmungen ist für die in der Luft präexistirenden Mengen Wasserdampf und Kohlensäure keine Correction eingeführt. Der dabei begangene Fehler ist aber erstens, wie die im Kap. I besprochenen Controlbestimmungen zeigen, an und für sich von keiner grossen Bedeutung, und zweitens ist die im Verhältnis zu den gebildeten Mengen Wasser und Kohlensäure bestimmte schweflige Säure in so kleinen Mengen vorhanden, dass der Einfluss des begangenen Fehlers dadurch noch mehr verringert wird.

Es handelt sich ja hier nicht um Naturconstanten, die mit dem höchstmöglichen Grade von Genauigkeit bestimmt werden sollen, sondern um das Erlangen von praktisch verwerthbaren Resultaten, bei welchen ein Fehler in der zweiten Decimale der für die schweflige Säure gefundenen Zahlen von keiner Bedeutung ist und ruhig unberücksichtigt gelassen werden darf.

Um nun annähernd berechnen zu können, wie gross der mittlere Schwefelgehalt des Leuchtgases in Christiana ist und wie viel Schwefeldioxydgas auf die durch die Verbrennung gebildeten, volumetrisch berechneten Mengen Wasserdampf und Kohlensäure kommt, habe ich einige Verbrennungsanalysen des Leuchtgases ausgeführt. Dieselben wurden in ganz einfacher Weise vorgenommen. Das durch eine Gasuhr gemessene Quantum Gas wurde durch ein mit trockenem und kohlensäurefreien, glühenden Kupferoxyd gefülltes Verbrennungsrohr geleitet, an dessen vorderem Ende die bei der Elementaranalyse gewöhnlich gebräuchlichen, gewogenen Absorptionsapparate für Wasser und Kohlensäure angesetzt waren. Die gebildete schweflige Säure wurde mit der Kohlensäure gewogen und als solche berechnet. Bei der ersten Analyse verbrannte ich ca. 1 l Gas, bei den übrigen ca. 2 l. Nach Beendigung der Verbrennung wurde durch den ganzen Apparat getrocknete und kohlensäurefreie Luft geleitet.

Datum	1 l Gas liefert	
	g H_2O	g CO_2
8. XI. Nachm.	0,9332	0,8068
9. XI. Vorm.	0,9327	0,7715
10. XI. Vorm.	0,9329	0,7945
10. XI. Nachm.	0,8457	0,7343
14. XI. Nachm.	0,8670	0,7604
15. XI. Nachm.	0,9404	0,8401
16. XI. Nachm.	0,8717	0,7527
Mittel	0,9034	0,7800

Ein Liter Leuchtgas liefert also im Mittel:

0,903 g Wasser = 1,118 l Wasserdampf[1])

und 0,780 g Kohlensäure = 0,397 l Kohlensäure[1])

Summa: 1,683 g = 1,515 l Verbrennungsproducte.

Aus diesen Mittelwerthen und den für das Verhältnis zwischen Verbrennungsproducten und Schwefeldioxydgas gefundenen Zahlen (0,328 ccm SO^2 auf 1 g Verbrennungsproducte) lassen sich folgende Werthe, von denen wir später Gebrauch machen wollen, berechnen:

1 g Verbrennungsproducte besteht aus

0,537 g Wasser = 0,667 l Wasserdampf

und 0,463 g = 0,236 l Kohlensäure

0,903 l.

1 g Verbrennungsproducte hat also bei 0° C. und 760 mm Quecksilberdruck gemessen ein Volum von 0,903 l. Darin ist enthalten 0,328 ccm SO_2.

1 l Verbrennnungsproducte muss also 0,364 ccm (1,04 mg) Schwefeldioxydgas enthalten und sonst aus 0,739 l Wasserdampf und 0,261 l Kohlensäure bestehen.

Da weiter 1 l Gas 1,683 g Verbrennungsproducte liefert und 1 g Verbrennungsproducte 0,942 mg SO_2 (= 0,471 mg S)

1) Landolt und Börnstein, a. a. O.

entspricht, so muss 1 l Gas im Mittel 0,79 mg Schwefel enthalten, ein Befund, der mit den oben genannten Angaben vom hiesigen Gaswerke auch ziemlich genau übereinstimmt.

Es darf als festgestellt gelten, dass sich bei jeder Verbrennung in der Luft bei Gegenwart von Wasserdampf Oxydationsproducte des Stickstoffs, namentlich Salpetersäure und salpetrige Säure bilden.[1])

Diese Säuren treten nicht allein auf, wenn die brennbare Substanz selbst Stickstoff enthält, sondern auch, wenn dieselbe stickstofffrei ist (Rubner[2]). Es liegt deswegen auf der Hand zu prüfen, in welcher Ausdehnung diese Substanzen zur Verunreinigung der Luft bei künstlicher Beleuchtung beitragen, um so mehr, da sie ziemlich giftige Eigenschaften[3]) besitzen. Versuche über das Vorkommen von salpetriger Säure haben Cramer[4]) bei Kerzenbeleuchtung und A. v. Bibra[4]) bei Gasbeleuchtung angestellt. Die grösste Menge salpetriger Säure, die v. Bibra in der Luft eines mit zehn Gasflammen beleuchteten, 428 cbm grossen Zimmers fand, war 0,01 mg in 5 l. Er nimmt aber an, dass der Gesammtwerth für die ganze Menge der N-Oxydationsproducte mindestens doppelt so gross gewesen sei. Zur Bestimmung saugte er mittelst eines Aspirators 5 bis 20 l Luft durch einen mit Natronlauge oder Lösung von kohlensaurem Natron beschickten Absorptionsapparat. In der Absorptionsflüssigkeit wurde die aufgenommene salpetrige Säure mittelst des Gries'schen Reagens' (Sulfanilsäure und Alpha Naphtylamin in essigsaurer Lösung) colorimetrisch bestimmt.

Im Gegensatz zu Cramer, der die Gasbeleuchtung für relativ unschädlich hält, glaubt v. Bibra[5]) »auf die Thatsache hinweisen zu müssen, dass unter dem Einfluss der N-Oxydations-

1) Louis Ilosvay de N. Ilosava. Ber. d. d. chem. Ges., 1889, 793 ff. und andere. Literatur bei v. Bibra. Archiv f. Hygiene, Bd. XIV, S. 216.

2) Zeitschr. f. Biologie, Bd. XXI, S. 270.

3) Literatur bei v. Bibra, a. a. O., S. 229.

4) a. a. O.

5) a. a. O., S. 238.

producte eine Schädigung der Respirationsschleimhäute stattfindet, daneben aber höchst wahrscheinlich Methämoglobin im Blute gebildet wird.« Weiter sagt er: »Es ist nun nicht anzunehmen, dass diese Einwirkungen, besonders wenn sie sich oft wiederholen, spurlos am Organismus vorübergehen. Es ist vielmehr sehr gut denkbar, dass die Alterirung der Lungenschleimhaut durch die geringen Mengen der salpetrigen Säure, wie sie in den Verbrennungsproducten der Leuchtstoffe sich finden, ein Glied in der Kette der prädisponirenden Momente für die Ansiedelung von Mikroorganismen bildet. Nicht unmöglich ist ferner, dass mit der Methämoglobinbildung eine Minderung der Widerstandskraft des Blutes gegen dieselben Elemente Hand in Hand geht.«

Nach den Ergebnissen meiner früher besprochenen Prüfungen auf flüchtige Säuren überhaupt und auf Oxydationsproducte des Stickstoffs insbesondere (S. 27) glaubte ich zuerst, bevor ich die Arbeit v. Bibra's kannte, dass letztere unter den Verbrennungsproducten des Gases, mit dem ich arbeitete, in so kleinen Mengen zugegen waren, dass sie sich kaum messen liessen. Nach dem Versuch 3—4/11 S. 24, dem einzigen, bei dem eine die Fehlergrenze der Methode überschreitende Menge flüchtiger Säuren gefunden wurde, kommen auf 34,6 mg Schwefelsäure (= 22,6 mg SO_2) 4,1 mg. Wenn wir voraussetzen, dass hier kein Versuchsfehler vorliegt, wenn wir weiter die 22,6 mg SO_2 entsprechende Menge Kohlensäure berechnen (1 mg SO_2 entspricht 0,25 l Kohlensänre S. 28) und wenn wir endlich die 4,1 m HSO_4 aequivalente Menge Salpetersäue berechnen, so bekommen wir 5,65 l CO_2 und 5,3 mg HNO_3. Rechnen wir nun mit den von v. Bibra gefundenen Kohlensäuregehalt eines Versuchszimmers (0,5 %), so würden 100 l einer solchen Luft 0,47 mg Oxydationsproducte des Stickstoffs als HNO_3 berechnet enthalten können, also etwas über das doppelte von dem von v. Bibra gefundenen Gehalt an salpetriger Säure. Ich muss aber in dieser Verbindung daran erinnern, dass die von mir berechnete Zahl einerseits einen Maximalwerth darstellt, der mir in seltenen Fällen erreicht zu werden scheint, und andererseits dass v. Bibra nur die salpetrige Säure, nicht aber die Salpetersäure bestimmt hat.

Dass in der That die bei der Verbrennung des Leuchtgases in Christiania gebildeten Mengen N-Oxydationsproducte jedenfalls eben so klein, wenn nicht kleiner sind als die von v. Bibra gefundenen, geht aus einigen Versuchen hervor, die ich ganz in derselben Weise wie v. Bibra mit der Luft aus meinem Schornstein angestellt habe. Diese wurde durch zwei Natronlauge enthaltende Waschfläschchen langsam während ca. 20 Stunden gesogen. Der Inhalt der Fläschchen wurde nach beendetem Versuch in einen 100 ccm Messkolben gespült und bis zur Marke verdünnt. Die darin enthaltene Menge salpetriger Säure wurde mit dem Gries'schen Reagens colorimetrisch bestimmt. Als Vergleichsflüssigkeit diente eine Lösung von geschmolzenem salpetrigsaurem Natron, die 0,025 g im Liter enthielt.

In Ermangelung eines Colorimeters bediente ich mich des von Rubner[1]) angegebenen Verfahrens mit einer Reihe möglichst gleich dicker Reagenzröhrchen. Es wurde ein Versuch mit jedem der drei benutzten Brenner angestellt.

Brenner	Liter Luft durchzogen	Darin mg N_2O_3	mg N_2O_3 in 100 l Luft
Schnittbrenner	92	0,33	0,36
Argandbrenner	60	0,23	0,40
Auer von Welsbach's Brenner . .	78	0,17	0,22

Die in 100 l gefundenen Mengen salpetriger Säure (N_2O_3) sind für den Schnitt- und Argandbrenner ungefähr doppelt so gross wie die v. Bibra (0,2 mg in 100 l). Da indessen der Kohlensäuregehalt der Zimmerluft, die v. Bibra untersuchte, durchschnittlich nur 0,5 % war, während die Luft des Schornsteins bei meinen Versuchen mit Schnitt- und Argandbrenner (siehe später bei meinen Thierversuchen) zwischen 2 und 3 % Kohlensäure enthielt, so darf ich schliessen, dass die Mengen salpetriger Säure, die im Verhältnis zur Kohlensäure gebildet wurden, bei meinen Versuchen kaum mehr als die Hälfte von denen bei v. Bibra's Versuchen waren.

1) Lehrbuch der Hygiene, S. 334.

Bei dem Auer v. Welsbach'schen Brenner wurde noch weniger salpetrige Säure gefunden, was wohl daher rührt, dass dieser Brenner weniger Gas verbraucht und also weniger Kohlensäure producirt. Die Luft im Schornstein ist deshalb weniger kohlensäurereich gewesen (cfr. meine Thierversuche). Das Verhältnis zwischen Kohlensäure und salpetriger Säure braucht dabei nicht geändert gewesen zu sein.

Es fällt mir schwer zu glauben, dass so kleine Mengen Oxydationsproducte des Stickstoffs wie die, die sowohl nach v. Bibra's wie nach meinen Versuchen bei Verbrennung von Leuchtgas entstehen, auf die Gesundheit schädlich einwirken können. Bei der Besprechung meiner Thierversuche werde ich auf diese Frage etwas näher eingehen.

Trotzdem dass Arsenverbindungen, soweit mir bekannt, nie im Leuchtgase nachgewiesen sind, liegt doch eine Möglichkeit vor, dass sie in demselben enthalten sein können. In den Steinkohlen findet sich nämlich häufig Schwefelkies, der bekanntlich arsenhaltig sein kann. Ginge nun dieses Arsen in das Leuchtgas über, so würde es wohl dort in Form von Arsenwasserstoff zugegen sein, welcher in der Flamme zu arseniger Säure verbrennen würde. Dass von dieser giftigen Substanz keine messbaren Mengen sich unter den Verbrennungsproducten befinden, das zeigen schon die oben erwähnten Untersuchungen auf flüchtige Säuren. Die arsenige Säure ist ja nämlich eine solche. Dass aber das Leuchtgas in Christiania überhaupt nicht eine Spur von Arsenverbindungen enthält, habe ich in folgender Weise dargethan.

Ich leitete das Gas von einer Gasuhr aus durch ein ausgezogenes Rohr von schwer schmelzbarem Glase, das ganz in derselben Weise angefertigt war wie die Röhren, die zu gewöhnlichen Arsenproben benutzt werden. Eine der weichen Stellen des Rohres wurde stark erhitzt. Wären nun Arsenverbindungen in dem Leuchtgase enthalten, so konnte man mit Sicherheit voraussetzen, dass diese bei Gegenwart der im Leuchtgase enthaltenen Kohlenwasserstoffe und des Wasserstoffs unter Bildung eines Arsenspiegels reducirt werden müssten. Dergleichen habe ich jedoch nie beobachtet, obwohl ich das Leuchtgas in grossen

Mengen und während langer Zeit durch das glühende Glasrohr geleitet habe.

Datum	Zeitdauer		Liter Gas verbraucht
	Std.	Min.	
25. XI.	9	0	186
27. XI.	7	0	209
28. XI.	6	30	189
29. XI.	4	50	137
30. XI.	7	0	203
1. XII.	7	40	245

Ich darf es deswegen als erwiesen ansehen, dass das Leuchtgas in Christiania keine Arsenverbindungen enthält.

III. Untersuchung des gebildeten Wassers.

Es wäre zu erwarten, dass durch Abkühlung und Verdichtung des bei der Gasverbrennung gebildeten Wassers auch andere, nicht allzu flüchtige Substanzen mit dem Wasser verdichtet werden. Deswegen habe ich dieses Wasser in grosser Menge gesammelt und einer näheren Untersuchung unterworfen, ob etwas darin wirklich zu finden wäre. Die mit Verbrennungsproducten gemischte Luft aus dem Schornstein habe ich in raschem Strom durch zwei aneinandergereihte Glaskühler in einen Kolben geleitet. In dem Kolben sammelten sich dann nach und nach mehrere dieser Wasser an. Die Versuche wurden mit jedem der drei benutzten Brenner wiederholt.

Dieses Wasser reagirte schwach sauer, war klar und durchsichtig und hatte eine sehr schwache, grünliche Farbe, die beim Neutralisiren mit Ammoniak in eine sehr schwach gelbliche oder bräunliche überging. Um vorläufig eine Vermuthung darüber zu bekommen, ob erhebliche Quantitätchen fremdartiger Substanzen darin gelöst wären, bestimmte ich mittelst eines Sprengelschen Piknometers sein specifisches Gewicht.

Brenner	Schnitt-	Argand-	Auer v. Welsbach-
Temperatur des Wassers	14,5° C.	21,5° C.	15,5° C.
Spec. Gewicht bei dieser Temperatur	0,9986	0,9984	0,9987
Spec. Gewicht von reinem Wasser bei derselben Temperatur . . .	0,9992	0,9980	0,9991

Wie man sieht, findet sich erst in der vierten Decimale ein Unterschied von dem specifischen Gewicht des reinen Wassers. Die Zahlen sind das Resultat nur einer einzigen Beobachtung. Es ist deswegen möglich, dass die vierte Decimale nicht mehr als ganz zuverlässig anzusehen ist.

Dem sei nun wie ihm wolle. Die Zahlen zeigen, dass ich vor der Hand nicht erwarten konnte, in dem Wasser grössere Mengen gelöster Substanzen zu finden.

Zu 100 ccm von diesem Wasser wurde nun die Schwefelsäure durch Fällung mit Chlorbaryum und Wägung als $Ba SO_4$ bestimmt.

Eine zweite, ebenso grosse Portion wurde mit Bromsalzsäure oxydirt, dann wurde die jetzt darin befindliche Schwefelsäure gewichtsanalytisch bestimmt. Die Differenz zwischen den aus den beiden Schwefelsäurebestimmungen gefundenen Mengen $H_2 SO_4$, die also in dem Wasser als schweflige Säure zugegen gewesen sein mussten, wurde in $H_2 SO_3$ umgerechnet.

Nach den im vorigen Kapitel gefundenen Werthen konnte ich berechnen, dass in 100 ccm Wasser 0,2683 g $H_2 SO_4$ enthalten sein würde, wenn die gesammte Menge schweflige Säure, mit den Verbrennungsproducten aus dem Schornstein gezogen wurde, in dem verdichteten Wasser als Schwefelsäure ($H_2 SO_4$) enthalten wäre.

Brenner	Schnitt-	Argand-	Auer v. Welsbach-
100 g Wasser entsprechende	g	g	g
berechnete H_2SO_4	0,2683	0,2683	0,2683
gefundene H_2SO_4	0,0042	0,0053	0,0048
gefundene H_2SO_3	0,0042	0,0048	0,0078

Aus den gefundenen Zahlen geht hervor, dass nur ein kleiner Bruchtheil der gebildeten, schwefelhaltigen Verbrennungsproducte mit dem Wasser niedergeschlagen ist. Es ist im höchsten Grade wahrscheinlich, dass die bei der Gasverbrennung gebildete Schwefelsäure vollständig in das Wasser in Lösung gegangen ist, während die mit dem Luftstrom fortgeführten Mengen schwefelhaltiger Verbrennungsproducte nur aus der weit mehr flüchtigen, schwefligen Säure bestanden haben. Daraus kann man schliessen, dass der im Leuchtgas enthaltene Schwefel fast ausschliesslich zu schwefliger Säure und nur zum kleinsten Theil (ca. 2%) zu Schwefelsäure verbrannt wird. Binnen kürzerer oder längerer Zeit wird selbstverständlich alle schweflige Säure in der mit Wasserdampf durchtränkten Luft in Schwefelsäure verwandelt werden. Wie lange Zeit dieser Prozess aber in Anspruch nehmen wird, davon ist es vor der Hand unmöglich, eine begründete Vermuthung aufzustellen.

Eine dritte, ebenfalls 100 ccm messende Portion des gebildeten Wassers wurde mit Ammoniak genau neutralisirt und in einer gewogenen Platinschale eingedampft. Der Eindampfungsrückstand wurde durch eine zweite Wägung der Schale bestimmt. Dann wurde die Schale geglüht und nochmals gewogen, um den Glührückstand zu bestimmen. Die weggeglühte Substanz (Differenz zwischen dem Eindampfungsrückstand und Glührückstand) bestand, wie sich aus dem früher bestimmten Gehalt des Wassers an H_2SO_3 und H_2SO_4 berechnen liess, zum weitaus grössten Theil aus den Ammonsalzen dieser Säuren.

Brenner	Schnitt-	Argand-	Auer v. Welsbach-
Eindampfungsrückstand	0,0185 g	0,0245 g	0,0244 g
Glührückstand	0,0007 »	0,0013 »	0,0011 »
Differenz (weggeglühte Substanz) .	0,0178 »	0,0232 »	0,0233 »
Davon $(NH_4)_2SO_4$ und $(NH_4)_2SO_3$.	0,0115 »	0,0140 »	0,0177 »
Differenz (organische Substanz?) .	0,0063 »	0,0092 »	0,0056 »

Der Theil von der weggeglühten Substanz, der aus Ammonsalzen nicht bestanden hat, ist wahrscheinlich irgend eine

organische Substanz gewesen, die entweder von der Flamme selbst herrührte oder von der dieselbe umgebenden atmosphärischen Luft (Staub etc.). Da ich mit allzu kleinen Mengen davon zu thun hatte, um sie einer weiteren chemischen Prüfung zu unterwerfen, habe ich mich damit begnügen müssen, mich durch ein Thierexperiment zu überzeugen, ob das gesammelte Wasser überhaupt giftige Eigenschaften besässe.

Gleiche Mengen des von dem Schnittbrenner und von dem Auer v. Welsbach'schen Brenner gebildeten Wassers wurden gemischt und von diesem Gemisch wurden 5 bis 6 ccm unter die Haut eines Kaninchens eingespritzt. Das Thier wurde mehrere Tage hindurch beobachtet, zeigte aber keine Spur einer Reaction.

Einer anderen Portion des Gemisches wurde Kochsalz zugesetzt bis zu einem Gehalte von 0,6 bis 0,7 %. Von dieser Lösung wurden 5 ccm durch die Ohrenvene eines anderen Kaninchens direct in die Blutbahn eingespritzt.

Dieses Thier zeigte ebensowenig eine Reaction wie das andere.

In den Säftestrom des Körpers hineingebracht, scheinen also die in dem aufgesammelten Wasser enthaltenen Substanzen keine giftigen Eigenschaften zu entfalten.

In dem Wasser wurde kein Ammoniak gefunden. Wenn Ammoniak unter den Verbrennungsproducten des Leuchtgases zugegen gewesen wäre, so wäre es in höchstem Grade wahrscheinlich, dass wenigstens ein Theil desselben von den schwefelhaltigen Säuren gebunden wäre. Da nun dies nicht der Fall war, so darf ich schliessen, dass sich unter den Verbrennungsproducten kein Ammoniak befunden hat.

Die Prüfung geschah in folgender Weise: 100 ccm jeder der von den verschiedenen Brennern herstammenden Wasserproben wurden mit Natronlauge destillirt und das Destillat in tritrirter $\frac{1}{10}$ n-Schwefelsäure aufgefangen. Die Schwefelsäure wurde nach beendeter Destillation in gewöhnlicher Weise zurücktitrirt.

Schliesslich ist zu bemerken, dass das Wasser Spuren von salpetriger Säure enthielt. Das Gries'sche Reagens gab einen

positiven Ausschlag, nicht aber Jodzinkstärkekleister, was wohl daher rührt, dass das Wasser schweflige Säure enthielt, welche die Reaction etwas behindert.

Auch nach Blausäure wurde gesucht und zwar mit den obenerwähnten Methoden und mit ganz demselben Resultat. Die eine Reaction hatte ein negatives Ergebnis, die andere bald ein negatives, bald ein positives, im letzteren Falle aber ein ausserordentlich schwaches.

IV. Thierversuche.

Die chemische Untersuchung der bei der Gasverbrennung entstandenen, die Luft verunreinigenden Producte hat also gezeigt, dass gewisse, zum Theil ziemlich giftige Substanzen unter denselben auftreten. So sind schweflige und salpetrige Säure immer und gewisse, mehr näher charakterisirte organische Verbindungen zuweilen zugegen. Zwar sind die Mengen derselben so gering, dass man von vornherein vermuthen durfte, dass sich deren schädliche Eigenschaften kaum geltend machen konnten. Vom hygienischen Standpunkte aus kann indessen ein solcher Schluss nicht als gerechtfertigt angesehen werden. Bekanntlich gibt es z. B. in der Luft überfüllter Lokale gewisse Substanzen, die von der Perspiration der dort sich aufhaltenden Menschen herrührten und deren Giftigkeit zweifellos ist, während man sie chemisch weder nachweisen noch bestimmen kann.

Etwas ähnliches konnte bei der Verunreinigung der Luft bei Gasbeleuchtung sehr wohl der Fall sein. Erstens ist eine, allerdings wie es mir scheint, kaum grosse Möglichkeit vorhanden, dass die kleinen Mengen der schwefel- und stickstoffhaltigen Säuren durch fortgesetzte Einwirkung gesundheitsschädlich werden konnten, und zweitens konnten unter den Verbrennungsproducten noch andere Substanzen vorhanden sein, die sich wegen der ungenügenden Empfindlichkeit unserer chemischen Methoden nicht nachweisen liessen. Endlich haben wir ja beim Auer v. Welsbach'schen Brenner auch unverbrannte kohlenstoffhaltige Substanzen wirklich gefunden, von deren Eigenschaften wir weder in chemischer noch in hygienischer Hinsicht etwas näheres wissen.

Die einzige Art und Weise, in der diese Fragen erledigt werden können, ist die vermittelst des Thierversuchs. Nun ist es aber aus leicht ersichtlichen Gründen im Allgemeinen nicht zu erwarten, dass ein Thierversuch, angestellt unter den im gewöhnlichen Leben statthabenden Verhältnissen Aufschlüsse über die eventuelle Schädlichkeit derselben geben sollte. Wenigstens muss der Versuch dann durch sehr lange Zeit ununterbrochen fortgesetzt werden. Sicherer und schneller kommt man dagegen zum Ziel, wenn man die schädlichen Potenzen, die vermittelst des Thierversuchs untersucht werden sollen, in hohem Grade steigert, um dadurch, wenn möglich, deutlich hervortretende Krankheitszustände oder den Tod des Thieres hervorzurufen. Bei der Untersuchung der Einwirkung der Verbrennungsproducte des Leuchtgases auf den thierischen Organismus muss demgemäss dafür gesorgt werden, dass die von den Thieren geathmete Luft überaus reich daran ist.

Soweit mir bekannt, ist Cramer[1]) der einzige, der solche Versuche eingeführt hat. Er liess in zwei Versuchen Meerschweinchen eine Luft athmen, die mit den Verbrennungsgasen eines Schnittbrenners stark verunreinigt war. Die Luft enthielt bis gegen 4,5 % Kohlensäure. In dem einen Versuche starb das Thier, nachdem es 5 Tage hindurch täglich 10 bis 11 Stunden die Verbrennungsproducte geathmet hatte, an lobulärer Pneumonie. In dem anderen, der 12 Tage nacheinander fortgesetzt wurde, und in dem das Thier bis 24 Stunden ununterbrochen die Verbrennungsproducte athmete, blieb es gesund und wurde später viele Wochen hindurch zu anderen Respirationsversuchen verwendet.

Cramer glaubt, und wie es mir scheint mit Recht, »mit diesen Versuchen den übertriebenen Vorstellungen von den schweren Schädigungen durch geringfügige Verunreinigungen der Luft entgegentreten zu können.«

Auch die von mir angestellten Thierversuche genügen an und für sich, um den Beweis zu liefern, dass Gasbeleuchtung nicht

1) a. a. O.

schädlich für die Gesundheit zu sein braucht. Sie wurden mit Mäusen angestellt, welche für schädliche Impulse aller Art ziemlich empfindlich sind und doch während drei Tagen ununterbrochen in einer mit Verbrennungsproducten des Leuchtgases stark verunreinigten Atmosphäre im besten Wohlergehen zu leben vermochten.

Die Luft wurde vom Schornstein aus direct in eine 7,2 l fassende Glasglocke (Fig. 6) geleitet, in der sich das Thier befand. Die Glocke war oben mit einem durch einen Kautschukstöpsel

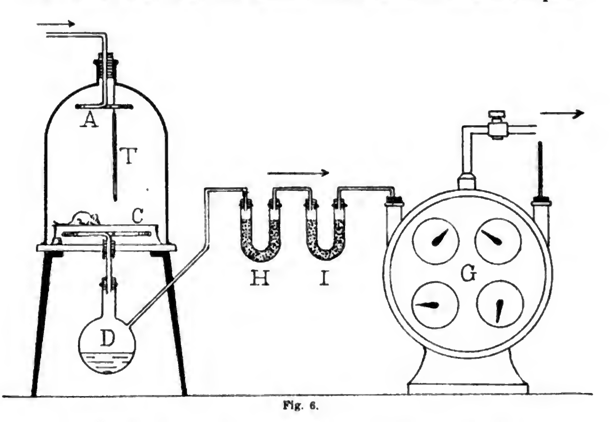


Fig. 6.

verschlossenen Tubulus versehen. Durch den Stöpsel führte ein Glasrohr vom Schornstein in die Glocke, in welcher das Rohr zu einem horizontal gelegenen Ringe (*A*) gebogen war. Dieser Ring war mit kleinen Ausflussöffnungen für die einströmende Luft versehen.

Unten ruhte die Glocke auf einem plangeschliffenen, in der Mitte durchlöcherten Luftpumpenteller. Die Luft wurde durch einen am Boden der Glocke angebrachten Ring aus Glasrohr (*B*), ähnlich dem oben angebrachten, aus der Glocke hinausgesogen. Ueber diesem Ringe war ein auf kleinen Füssen ruhendes Draht-

netz (*C*) angebracht, auf welchem das Thier herumlaufen konnte. In der Glocke war ausserdem ein Thermometer (*T*) aufgehängt.

Von der Glocke aus wurde die Luft durch einen doppelt tubulirten Kolben (*D*) geleitet, wo das Wasser grösstentheils verdichtet wurde und von diesem durch eine Gasuhr (*G*). Zwischen dem Kolben und der Gasuhr konnten zwei U-förmige Röhren, die eine (*H*) mit Chlorcalcium, die andere (*J*) mit Natronkalk eingeschaltet werden. Das letztere diente zur Bestimmung des Kohlensäuregehaltes der durchgesogenen Luft. Der Luftstrom wurde durch das oben beschriebene Quecksilberventil, das sich zwischen der Gasuhr und der Wasserstrahlpumpe befand, regulirt.

Es wurde ein Versuch mit jedem der drei benutzten Brenner angestellt. Die Thiere lebten drei Tage und Nächte hindurch fast ununterbrochen in der Glocke. Nur jeden Morgen wurden die Versuche eine Viertelstunde unterbrochen behufs Reinigung der Glocke und Einsetzen von neuem Futter.

Die Resultate lassen sich am besten in tabellarischer Form übersichtlich darstellen.

Brenner	Schnitt-	Argand-	Auer v. Welsbach-
Die Gasuhr zeigte	3197 l	5259 l	2396 l
Die Glocke ventilirt 1 mal in .	9,9 Min.	5,9 Min.	12,6 Min.
	Vol.-Proc. CO_2	Vol.-Proc. CO_2	Vol.-Proc. CO_2
Luftproben . .	29. XI. Vorm. **1,92**	4. XII. Vorm. **2,70**	22. XI. Nachm. **1,02**
	30. XI. Nachm. **2,42**	5. XII. Nachm. **3,12**	23. XI. Vorm. **1,32**
	30. XI. Nachm. **2,71**		

Die Temperatur in der Glocke hielt sich gewöhnlich ungefähr bei 19° bis 21° C. mit Schwankungen von 15° bis 29° C.

Als Indicator für die Grösse der Verunreinigung der Luft diente der Kohlensäuregehalt derselben. Dieser betrug von 1 bis 3 % eine Höhe, die in unseren Wohnzimmern unter keinen Umständen vorkommen wird. Da nun trotzdem die Thiere sich wohl zu befinden schienen, ihr Futter frassen und sich lebhaft bewegten, so dürfen wir wohl Cramer beistimmen und die Gegenwart von giftigen Substanzen in Mengen, die schädlich auf die

Gesundheit einwirken konnten, ausschliessen. Selbstverständlich gilt aber dies nur dann, wenn das Gas von guter Qualität ist und die Brenner von zweckmässiger Construction sind und keinen übelen Geruch verbreiten.

Ob in der Glockenluft Kohlenoxyd zugegen gewesen ist, habe ich zum Gegenstand einer genaueren Prüfung gemacht, deren Resultat aber negativ ausfiel. Ich befolgte dabei das von Hempel in seinen »Gasanalytischen Methoden« beschriebene Verfahren, bei welchem das Kohlenoxyd im Blute von Thieren, die die zu prüfende Luft eingeathmet haben, spectroskopisch nachgewiesen wird. Nach Hempel liegt die Empfindlichkeitsgrenze dieser Methode bei einem Kohlenoxydgehalte der Luft von 0,03 % und die Giftigkeitsgrenze für Mäuse bei 0,05 %, so dass die Methode bei der bei meinen Thierversuchen stattfindenden starken Verunreinigung der Luft als vollkommen ausreichend angesehen werden darf.

Die Thiere wurden nach Beendigung der Versuche durch Ertränken getödtet, das Blut durch Zerschneiden in der Herzgegend entleert und mit 0,1 % Sodalösung passend verdünnt.

Die Reduction wurde nicht in der von Hempel angegebenen Weise mit Schwefelammonium vorgenommen. Es tritt nämlich dabei eine Zersetzung des Hämoglobins ein, was sich bei der spectroskopischen Beobachtung dadurch kennzeichnet, dass der für das Methämoglobin eigenthümliche Absorptionsstreifen auftritt. Einer solchen Zersetzung entgeht man, wenn man die Reduction mittelst Durchleitung von Wasserstoff in einem luftdicht verschlossenen Glasgefäss vornimmt.

Das Blut der Thiere liess sich mit Wasserstoff vollständig reduciren. Die bekannten zwei Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins verschwanden nach einiger Zeit und an ihrer Stelle trat das für das reducirte Hämoglobin charakteristische breite, dunkle Band auf. Bekanntlich geschieht dies nicht mehr, wenn das Blut Spuren von Kohlenoxyd enthält.

Ebenfalls war, wenn das Oxyhämoglobin mit Wasserstoff reducirt wurde, von dem im rothen Theil des Spectrums liegenden charakteristischen Streifen des Methämoglobins nichts zu sehen,

was insofern von Interesse ist, als bei Vergiftungen mit salpetriger Säure Methämoglobin im Blute auftreten soll.

Prüfung der Luft in Wohnräumen mit Gasbeleuchtung.

Um beurtheilen zu können, in wie grosser Menge die obenbesprochenen schädlichen Substanzen, namentlich die schweflige Säure in einem mit Gas beleuchteten Wohnraum unter gewöhnlich im täglichen Leben vorkommenden Verhältnissen vorkommen können, habe ich Analysen der Luft in solchen Räumen vorgenommen. Dabei wurde der Kohlensäure- und Wassergehalt der Luft bestimmt und aus dem ersteren der Gehalt an schwefliger Säure berechnet.

Zwar finden sich in der Litteratur vielfach Angaben über den Kohlensäuregehalt der Zimmerluft bei verschiedenen Beleuchtungsarten, auch bei Gasbeleuchtung. So fand Zoch[1]) bei der Benutzung einer Gasflamme nach vier Stunden einen Kohlensäuregehalt von 2,94 ‰. Erismann[2]) fand bei verschiedenen Versuchsanordnungen 0,386 bis 1,82 ‰ Kohlensäure, Cramer[2]) 1,5 bis 3,56 ‰. v. Bibra[2]) fand in einem 427 cbm grossen Raume, wo zehn Gasflammen brannten, 0,5 ‰ u. s. w.

Ich hielt es aber für unstatthaft, die in der Litteratur vorgefundenen Resultate solcher Bestimmungen bei meinen Berechnungen zu benutzen, erstens weil sie mit anderen Leuchtgasen angestellt sind, deren Kohlenstoffgehalt ein anderer gewesen sein kann, zweitens weil die angeführten Zahlen wohl kaum Maximalwerthe darstellen, d. h. Grenzen, die selbst unter hygienisch sehr ungünstigen Umständen nicht überschritten werden. Mit solchen Maximalwerthen musste ich aber rechnen, wenn ich bei meiner Beurtheilung der Schädlichkeit der Verbrennungsproducte meines Leuchtgases sicher gehen wollte.

Bei meinen Versuchen wurde auf verschiedene Factoren, die auf die Verunreinigung der Luft Einfluss ausüben, Rücksicht genommen, wesentlich auf die Ventilation des Zimmers und die Zahl der angezündeten Gasflammen. Die Analysen selbst wurden

1) Zeitschr. f. Biologie, III, S. 121.

2) a. a. O.

in der schon früher besprochenen Weise durch Wägung des Wassers und der Kohlensäure vorgenommen. Die Luft wurde zu diesem Zwecke durch gewogene U-förmige Röhren mit Chlorcalcium und Natronkalk und dann durch eine feine Gasuhr gesogen. Zwischen den U-förmigen Röhren und der Gasuhr befand sich ein Quecksilbermanometer und auf der anderen Seite der Gasuhr das mehrmals erwähnte, zum Reguliren des Luftstroms dienende Quecksilberventil. Das Manometer gab an, wie viele Millimeter Quecksilberdruck von dem Barometerstand abzuziehen waren, um den Druck zu bekommen, bei dem die durch die Gasuhr gegangene Luft gemessen war. Die Temperatur der durch die Gasuhr gehenden Luft wurde durch ein in eine Oeffnung des Gasometers luftdicht eingeschaltetes Thermometer gemessen. Wenn nun die Gasuhr, das Manometer, das Thermometer und das Barometer abgelesen wurden, standen alle zur genauen Berechnung des gemessenen Luftquantums nöthigen Factoren zur Verfügung.

Da die Gasuhr eine sogenannte »nasse« war und die Luft sehr langsam durchgesogen wurde, musste ich voraussetzen, dass sie mit Wasserdampf gesättigt gemessen war. Das auf der Gasuhr abgelesene Quantum wurde deswegen auf 760 mm Quecksilberdruck, 0° C. und Trockenheit reducirt. Die gewogenen Mengen Wasser und Kohlensäure wurden dann auf Volumen und zwar auch bei 760 mm Quecksilberdruck und 0° C. umgerechnet.[1]) Die so gefundenen Volumina wurden dem durch die Gasuhr gemessenen und auf Normaldruck und Temperatur reducirten Luftvolumen hinzuaddirt und endlich in Procenten der Summe berechnet. Zu bemerken ist noch, dass die Luftproben an einem Ort in der Mitte des Zimmers, in der Höhe meines Kopfes genommen sind. Die gefundenen Zahlen geben also nur die Zusammensetzung der von mir geathmeten Luft an, nicht die durchschnittliche Zusammensetzung der Zimmerluft, die selbstverständlich an der Decke, am Boden und in der Mitte des Zimmers eine verschiedene gewesen sein kann.

1) Landolt und Börnstein, a. a. O.

Die Luftproben wurden vor dem Beginn und beim Schluss des Versuchs genommen.

Ich stellte zwei Versuchsreihen an, eine in einem schlecht ventilirten Zimmer, um einen Begriff davon zu bekommen, wie hochgradig die Luftverunreinigung unter ungünstigen Umständen werden kann, eine andere in einem mit guten Ventilationseinrichtungen versehenen Zimmer. In dem schlecht ventilirten Zimmer (mein eigenes Laboratoriumszimmer) stopfte ich sorgfältig alle Oeffnungen, alle Abzüge und dergleichen zu. Ueber die durch diese Versuche gewonnenen Resultate gibt Tabelle S. 144 u. 145 die nöthigen Aufschlüsse, nur ist zu bemerken, dass der in Volumprocenten angeführte Gehalt der Luft an schwefliger Säure mit Hilfe der früher gefundenen Verhältniszahl zwischen dieser Säure und den gesammten Verbrennungsproducten berechnet ist.

Wir wollen zuerst unsere Aufmerksamkeit auf den zweiten Versuch richten. Bei diesem liess ich 13 Flammen brennen in einem Zimmer, zu dessen Erleuchtung höchstens fünf bis sechs nothwendig sind. Bei meiner täglichen Arbeit benutze ich gewöhnlich drei oder vier. Unter diesen Umständen stieg der Kohlensäuregehalt der Zimmerluft während acht Stunden bis zu 1 Vol.-Proc. Gleichzeitig stieg die Temperatur bis nahezu 30° C. Beim Aufenthalt in dem Zimmer verspürte ich trotz des grossen Kohlensäuregehaltes nichts von dem von Cramer[1]) bei einem ähnlichen Versuche wahrgenommenen Geruch nach salpetriger Säure. Dagegen empfand ich die hohe Temperatur sehr lästig. Eine so hohe Temperatur würde überhaupt in einem Wohnzimmer nie geduldet werden. Man würde ganz einfach Thüre und Fenster öffnen und bei der in dieser Weise herbeigeführten Auslüftung auch den grössten Theil der gebildeten Kohlensäure wegschaffen. Wir können es deshalb im Grossen und Ganzen wohl ruhig als eine Thatsache ansehen, dass eine Verunreinigung der Luft mit Kohlensäure bis zu 1 % bei Gasbeleuchtung nie oder nur unter exceptionellen Verhältnissen in unseren Wohnräumen statthaben wird. Ein Kohlen-

1) a. a. O.

säuregehalt von 0,6 bis 0,8 % würde aber nach meinen Versuchen 3 und 4 in schlecht ventilirten Zimmern leicht eintreten können. In Zimmern aber, die gute Ventilationseinrichtungen besitzen, wird der Kohlensäuregehalt der Luft kaum 0,2 bis 0,3 % übersteigen.

Der Vermehrung der Kohlensäure wird bei Gasverbrennung eine Verminderung des Sauerstoffes entsprechen. Da nun das Sauerstoffmolekül (O_2) und das Kohlensäuremolekül (CO_2) beide

	Datum	Vor dem Versuch			Ver				
		Gehalt der Luft (Vol.-Proc.) an		Temperatur der Zimmerluft	Die Gasflammen brannten alles in allem		Die Luftanalyse dauerte während der letzten		Tem Zim
		Wasserdampf	Kohlensäure		Stde.	Min.	Stde	Min.	Beim Anstecken der Flammen
				Cels.					Cels.
Schlecht ven-	25. IX. 93	0,635	0,069	13,3°	1	19	—	47	13,3°
tilirtes Zim-	27. IX. 93	0,674	0,074	13,7°	2	5	—	37	14,5°
mer. Cubik-	30. IX. 93	0,770	0,118	16,1°	2	26	—	35	16,2°
inhalt 91,820	3. X. 93	0,963	0,069	16,7°	2	2	1	8	16,8°
cbm. Keine	1. XI. 93	0,677	0,092	15,0°	2	10	—	40	15,0°
Ofenheizung.	6. XI. 93	0,498	0,104	15,6°	2	13	—	38	13,5°
Gut ventilirtes Zimmer. Cubikinhalt 195,610 cbm	30. XI 93	0,564	0,125	21,0°	2	22	—	17	21,5°
Ofenheizung.	4 XII. 93	0,168	0,089	18,8°	5	31	—	18	18,7°

dasselbe Volumen haben, so wird die Vermehrung der Kohlensäure der Luft um ein Procent eine Verminderung des Sauerstoffs gleichfalls um ein Procent zur Folge haben. Nun wissen wir aber nach den Untersuchungen von P. Bert[1]), Friedländer und Herther[2]), Speck[3]) und anderen, dass es für das Leben und Wohlbefinden der Menschen von gar keiner Bedeutung ist, ob die geathmete Luft 1 % Kohlensäure mehr und 1 % Sauerstoff weniger enthält, als frische Luft enthalten soll.

1) La pression barométrique. Paris 1878.

2) Zeitschr. f. physiolog. Chemie, II, S. 99 und III, S. 19.

3) Physiologie des menschlichen Athmens. Leipzig 1892.

Dasselbe darf ich wohl auch aus meinen Thierversuchen schliessen, bei denen der Kohlensäuregehalt der von den Thieren geathmeten Luft bis über 3 % stieg, ohne einen merkbar schädlichen Einfluss auf das Wohlbefinden der Thiere auszuüben.

Von der Kohlensäure gilt dies aber nur, insofern wir es mit reiner Kohlensäure zu thun haben. Sind derselben, sowie z. B. hier unter den Verbrennungsproducten des Gases, andere Substanzen beigemischt, so können diese selbstverständlich unab-

such selbst

peratur der merluft		Gehalt der Luft (in Vol.-Proc.) an			Relative Feuchtigkeit d. Luft	Brenner				Cubikmeter Luft im Zimmer pr. Brenner
Beim Beginn der Luftanalyse	Beim Schluss der Luftanalyse	Wasserdampf	Kohlensäure	Schwefliger Säure		Schnitt-	Argand-	Binsen	Summe	
Cels.	Cels.									
21,6°	25,0°	1,998	0,951	0,0011	77 %	3	6	4	13	7,063
28,2°	29,9°	2,648	1,069	0,0014	64 »	3	6	4	13	7,063
21,3°	21,4°	1,886	0,788	0,0010	58 »	2	3	—	5	18,364
21,4°	22,4°	1,767	0,615	0,0009	63 »	2	3	—	5	18,364
18,8°	19,5°	1,050	0,334	0,0005	46 »	—	3	—	3	30,607
16,4°	16,8°	0,796	0,328	0,0004	42 »	—	3	—	3	30,607
26,5°	27,0°	0,703	0,270	0,0001	22 »	—	—	—	—	27,944
29,5°	29,6°	0,386	0,224	0,0002	11 »	—	—	—	—	27,944

hängig von der Kohlensäure ihre möglichen giftigen Eigenschaften entfalten. Ihre Mengen brauchen nicht denen der Kohlensäure proportional zu sein, weshalb der Kohlensäuregehalt der Luft auch nicht als Indicator für die Verschlechterung derselben brauchbar ist.[1]) Solche giftige Substanzen sind aber, wie meine Thierversuche zeigen, den Verbrennungsproducten des Gases in Christiania beim Gebrauche von guten Brennern nicht in so grossen Mengen beigemischt, dass sie gesundheitsschädliche Wirkungen auszuüben vermögen.

1) Siehe bei Erismann, a. a. O.

Der Gehalt der Luft an schwefliger Säure wird, wenn das Gas 0,7 bis 0,8 g Schwefel pro cbm enthält, in einem Wohnzimmer kaum höher als bis zu 0,001, unter exceptionellen Verhältnissen bis zu 0,0015 Vol.-Proc., steigen, das heisst, in 100 l Luft wird 1 ccm SO_2-Gas enthalten sein.

Wenn man die Untersuchungen von Lehmann[1]) und Hirt[2]) in Betracht zieht, so wird man diesen Mengen von schwefliger Säure, welche aber bei Beleuchtung mit solchem Gase unvermeidlich sind, eine Bedeutung in hygienischer Beziehung kaum beilegen können. Verfügt man in einem mit Gas beleuchteten Wohnzimmer über eine gute Ventilation, so reducirt sich der Gehalt der Luft an schwefliger Säure zu einer verschwindenden Grösse. (0,2 bis 0,4 ccm pro cbm Luft.)

Was den relativen Feuchtigkeitsgrad der Luft anbelangt, so ist dieser nie bis zu excessiven Graden gestiegen. Die höchste von mir gefundene Zahl ist 77 %. Es ist im Gegentheil merkwürdig, wie niedrig er bei den meisten Versuchen gefunden worden ist, besonders da das Leuchtgas im Verhältnis zu anderen Beleuchtungsmaterialien sehr wasserstoffreich ist und also bei der Verbrennung viel Wasser liefert. Die Erklärung dieser Thatsache ist darin zu suchen, dass das Leuchtgas einen hohen Heizwerth hat und demnach die Zimmerluft während der Beleuchtung auch gleichzeitig stark erwärmt. Nun ist es vorzugsweise die kalte Jahreszeit, in der eine Beleuchtung unserer Wohnzimmer mit Gas oder anderen Materialien nothwendig ist, wenigstens im Norden, wo man im Sommer wegen der hellen Nächte überhaupt fast keine künstliche Beleuchtung braucht. In der kalten Jahreszeit aber wird die künstlich erhitzte Zimmerluft wegen des geringen absoluten Feuchtigkeitsgrades der im Freien befindlichen Luft relativ sehr arm an Feuchtigkeit, ein Uebelstand, der unangenehm empfunden wird und dem man dadurch abzuhelfen versucht, dass man mit Wasser gefüllte Schalen auf den Ofen stellt. Unter diesen Umständen muss es entschieden

1) a. a. O.

2) s. Boehm, Naumeyer und Boeck, Handb. der Intoxicationen.

als ein Vortheil bei der Gasbeleuchtung angesehen werden, dass dieselbe einen Zuwachs des Feuchtigkeitsgrades der Zimmerluft veranlasst.

Obgleich die mir vorgelegte Frage nach der Schädlichkeit der Verbrennungsproducte des Leuchtgases durch die oben auseinandergesetzten Versuchsresultate eine ausreichende Beantwortung gefunden hat, will ich doch noch einen Factor etwas näher besprechen, der eigentlich nicht hierher gerechnet werden kann, welcher aber in hygienischer Beziehung eine nicht zu unterschätzende Bedeutung besitzt, nämlich die mit der Gasverbrennung verbündete Wärmeentwickelung.

Wenn in einem Zimmer mehrere Gasflammen brennen, entwickelt sich dabei eine Hitze, die unter Umständen sehr lästig werden kann, um so mehr, weil es scheint, als ob die Temperatur durch Ventilation des Zimmers nicht gemässigt werden kann. Aus den zwei zuletzt angeführten Versuchen, die beide unter ganz gleichen Umständen ausgeführt wurden, nur mit dem Unterschied, dass der eine 2 Stunden 22 Minuten dauerte, der andere 5 Stunden 31 Minuten, geht nämlich hervor, dass der Kohlensäuregehalt infolge der guten Ventilation bei 0,2 bis 0,3 Vol.-Proc. stationär blieb, während die Temperatur der Zimmerluft fortwährend stieg, bei dem letzten Versuch bis zu 29,6° C. Nach dem Erlöschen der Gasflammen hielt sich die Temperatur mehrere Stunden hindurch trotz der Ventilation über 25° C.

Die Erklärung dieses Umstandes ist nicht in der bei diesen zwei Versuchen bestehenden Ofenheizung zu suchen. Diese treibt unter gewöhnlichen Umständen die Zimmertemperatur nie so stark in die Höhe. Vielmehr liegt der Grund darin, dass die vielen Gasflammen eine grosse Menge strahlender Wärme aussenden. Diese erhitzt dann Decke, Boden und Wände des Zimmers, welche später ihre Wärme an die von aussen eintretende frische Luft abgeben.

So lange die bei der Gasbeleuchtung entstandene Wärmeentwickelung noch keine zweckmässige Anwendung gefunden hat, müssen wir sie als einen Uebelstand ansehen. Dann müssen

wir aber auch, wenn wir der Gasbeleuchtung eine gerechte Beurtheilung zu Theil werden lassen wollen, uns daran erinnern, dass Wärmeentwickelung überhaupt mit jeder Art von Beleuchtung, die durch Verbrennung geschieht, untrennbar verbunden ist. Ob die Verhältnisse in dieser Beziehung bei Beleuchtung mit Gas sich schlechter oder besser stellen, als bei Beleuchtung mit anderen Materialien, wie Petroleum, Stearinkerzen u. s. w., kommt deswegen darauf an, ob letztere bei Entwickelung desselben Lichtmenge mehr oder weniger Wärme bilden als das Gas.

Nachstehende Tabelle gibt darüber für die Verhältnisse, wie sie in Christiania bestehen, einigen Aufschluss. Die Zahlen sind für die stündliche Erzeugung von 100 englischen Normalkerzen Helligkeit berechnet.

	100 englische Normalkerzen Helligkeit pro Stunde				
	Materialverbrauch	Wasser g	Kohlensäure g	Calorien	Preis in Christiania in Oere[1])
Schnittbrenner	1160 l Gas	1044G.	805G.	6380C.	17,4
Sugg's Argandbrenner	876 » »	808 »	683 »	4820 »	13,1
Regenerativlampe	430 » »	387 »	335 »	2370 »	6,5
Auer'sches Glühlicht	200 » »	180 »	156 »	1100 »	3,0[2])
Stearinkerzen	830 g Stearin	847 C.	2316C.	7140 »	127,0
Gute Petroleumlampe	313 g Petroleum	398 »	980	3440 »	4,7
Elektrisches Glühlicht				290 »	24,0

Die mit »C.« bezeichneten Zahlen sind nach den von Cramer[3]) gefundenen Werthen für Kohlensäure-, Wasser- und Wärmebildung bei Verbrennung von Gas, Stearin und Petroleum berechnet. Die mit »G.« bezeichneten Zahlen sind nach den Ergebnissen meiner eigenen Elementaranalysen des Leuchtgases in Christiania, und die Zahlen der ersten Reihe nach Mittel-

1) Eine Oere ist ungefähr 1,12 Pfennige.

2) Die Ausgaben zum Mantel nicht mitgerechnet.

3) a. a. O. Die Verbrennungswärmen sind in obiger Tabelle für das Gas zu rund 5500 Calorien per 1000 l, für Stearin zu 8600 und für Petroleum zu 11000 Calorien per Kilo gerechnet.

werthen berechnet, die bei zahlreichen am Gaswerke in Christiana angestellten Versuchen gefunden wurden.

Aehnliche Tabellen finden sich in Rubner's Lehrbuch der Hygiene S. 245 und in Wagner's Jahresberichte der chemischen Technologie 1891 S. 67. Die Angaben dieser stimmen im Grossen und Ganzen mit den oben angeführten so gut überein, wie es bei den Verschiedenheiten der örtlichen Verhältnisse erwartet werden kann. Aus sämmtlichen ergibt sich, dass bei Gasbeleuchtung sowohl die Kohlensäure- als die Wärmeproduktion unter allen Umständen geringer als bei Kerzenbeleuchtung und unter Umständen auch als bei Petroleumbeleuchtung ist. Es ist dies von dem benutzten Gasbrenner abhängig. Beim Auer v. Welsbach'schen Glühlicht stellen sich die Verhältnisse besser und beim Schnittbrenner viel schlechter als bei einer guten Petroleumlampe. Kommt nun dazu, dass Stearinkerzen gewöhnlich und Petroleum zuweilen Schwefelsäure enthalten, welche bei der Verbrennung in die Luft übergeht, und dass, wie aus Cramer's und Erismann's Untersuchungen hervorgeht, alle brennbaren Beleuchtungsmaterialien ein wenig unverbrannte Substanzen liefern, so dürfen wir wohl behaupten, dass keine Gründe vorliegen, welche dafür sprechen, dass Gasbeleuchtung schädlicher für die Gesundheit ist, als Beleuchtung mit andern Substanzen bei denen Licht durch Verbrennung erzeugt wird. Bei der Benutzung von zweckmässigen Brenner wie des Auer v. Welsbach'schen oder des Argandbrenners und von reinem Leuchtgas, d. h. Gas, welches möglichst frei von stickstoff- nnd schwefelhaltigen Verbindungen ist, stellen sich die Verhältnisse im Gegentheil ebensogut oder besser als bei Petroleum, welches doch zu den zweckmässigsten Beleuchtungsmaterialien gerechnet werden muss.

In Verbindung mit obiger Darstellung meiner eigenen Versuche über die Hygiene der Gasbeleuchtung will ich nicht versäumen, die Aufmerksamkeit zu lenken auf einige am Gaswerke in Christiania von dem Gärtner P. Növik angestellte Versuche über die Einwirkung der Gasbeleuchtung auf Pflanzen. Diese

Versuche dürften der Mehrheit der Leser dieser Zeitschrift unbekannt sein, während sie doch in hygienischer Beziehung sehr bemerkenswerth sind und deswegen auf allgemeineres Interesse Ansprüche machen dürfen. Seine Versuchsresultate hat Herr Növik in einer kleinen Notiz in »Norsk Havetidende« (Norwegische Gartenzeitung) 1889, S. 73 niedergelegt. Sie lautet in wörtlicher Uebersetzung:

„Die Wirkung des Leuchtgases auf Pflanzen."

»Es ist eine bekannte Sache, dass dem Leuchtgase eine so schädliche Wirkung auf Pflanzen beigelegt wird, dass man fast alle Kultur von Pflanzen in Zimmern, die mit Gas beleuchtet sind, für unmöglich hält. Etwas Uebertreibung ist jedoch darin. Ist nämlich die Gasleitung dicht, und benutzt man die jetzt gewöhnlichen Specksteinbrenner, nicht eiserne Brenner, so kann man trotz der Gasbeleuchtung in seinen Zimmern eine ganz hübsche Sammlung von Pflanzen haben. Auf Veranlassung des Gaswerkes in Christiania ist, um diese Sache möglichst genau zu untersuchen, während 2 Jahren mit einer Anzahl gewöhnlicher Stubenpflanzen experimentirt worden. Die Pflanzen wurden bei einem Handelsgärtner gekauft und von den Gewächshäusern gleich in Wohnzimmer im Gebäude des Gaswerke gebracht. Die Resultate dieser Versuche übertrafen bei weitem die Erwartung. Es zeigte sich nämlich, dass besonders die Pflanzen, die wegen ihrer schönen Blätter gezogen werden (Blattpflanzen) sehr gut standen. Aspedistra elatior, die ja überhaupt eine sehr genügsame Pflanze ist, hielt sich die ganze Zeit hindurch ausgezeichnet. Dracaena rubra und D. indivisa, die nach der Behauptung Vieler Leuchtgas gar nicht vertragen sollten, waren im Frühling fast eben so hübsch, wie im Herbst, als sie aus dem Gewächshaus kamen. Mehrere Palmen wie Phönix, Latania und Areca gediehen recht gut, ebenso Curculigo recurvata. Philodendron und Ficus elastica gediehen nicht ganz so gut, doch war die ganze Zeit hindurch nichts an ihnen auszusetzen. Rosen, Fuchsien und Nelken thaten dagegen nicht gedeihen. Im Ganzen zeigte es sich, dass Pflanzen, die

um ihrer Blumen willen gezogen werden, nicht so gut gedeihen. Das Resultat würde jedoch auch bei diesen besser ausgefallen sein, wenn man über passende Zimmer mit hinlänglichem Sonnenschein hätte disponiren können, was leider nicht der Fall war. Pflanzen, die ohne Sonnenschein bis zum Blühen getrieben werden können, gediehen nämlich besonders gut.

Beide Jahre wurden Hyacinthen, Tulpen und andere Zwiebelgewächse mit gutem Erfolg gezogen. Nur ein einziges Mal wurden die Tulpen weniger hübsch. Der Grund dazu kann aber nur in dem Umstand liegen, dass sie aus einem Kasten herausgenommen und in Töpfe gepflanzt waren und also grösstentheils ihrer Wurzeln beraubt waren. Eine solche Behandlung vertragen Zwiebelgewächse, die in Wohnzimmern gezogen werden, überhaupt nicht.

Wir haben hier einige Beispiele von Pflanzen genannt, die sich sehr wohl in Zimmern ziehen lassen, welche mit Gas beleuchtet werden. Es wird vermuthlich einleuchtend sein, dass man in einer einzelnen Wohnung kaum mit einer grösseren Anzahl von Arten experimentiren kann. Darauf wurde auch nicht gezielt. Man ging nämlich davon aus, dass es von ungleich grösserer Bedeutung sei, dass die Versuche mit einer kleinen Anzahl Arten so gründlich wie möglich durchgeführt wurden, statt eine grössere Menge zusammenzuhäufen, denen man schwerlich einigermaassen günstige Bedingungen bieten konnte. Aus den vorliegenden Resultaten der Versuche mit obengenannten Pflanzen wird es ausserdem für jeden, der Pflanzen zieht, leicht sein zu schliessen, von welchen anderen Arten er erwarten kann, dass sie gedeihen werden. So kann es z. B. keinem Zweifel unterliegen, dass die meisten Palmenarten, die überhaupt in Wohnzimmern gedeihen können, von dem Leuchtgase keinen merkbaren Schaden leiden, wenn sie nur in vernünftiger Weise behandelt und ihre Bewässerung und Reinhaltung nicht vernachlässigt werden. Gleichfalls können unzweifelhaft die allermeisten Zwiebelgewächse z. B. Amaryllis, die hübsche aber bei uns noch seltene Clivia nobilis, die eine ausgezeichnete Stubenpflanze ist, und viele andere mit Glück gezogen werden.

Im Ganzen muss es als ausgemacht angesehen werden, dass, wenn das Resultat im Gaswerke selbst so gut ausfiel, es sehr wohl möglich ist, eine nicht unbedeutende Anzahl Pflanzenarten in Zimmern, wo man Gas brennt, zu ziehen. Leute, die den Blumenflor sahen, den einige Fenster im Gaswerke zu der Zeit, während der die Experimente angestellt wurden, immer darboten, wollten kaum glauben, dass die Pflanzen hier längere Zeit hindurch gezogen und sogar zur Blüthe getrieben waren.«

Weitere Untersuchungen über den Austritt des Fettes aus der Emulsionsform in der sterilisirten Milch.

Von

Prof. Dr. **Renk.**

(Aus dem hygienischen Institute der Universität Halle.)

Im 17. Bande dieser Zeitschrift, dem Herrn Geheimrath v. Pettenkofer zu seinem 50jährigen Doctorjubiläum gewidmeten Jubelbande, habe ich Beobachtungen »über Fettausscheidung aus sterilisirter Milch« mitgetheilt[1]), deren Ergebnis kurz dahin zusammengefasst werden konnte, dass in sterilisirter Milch bei längerer Aufbewahrung allmählich ein Theil des Fettes aus der Emulsionsform ausgeschieden wird und dass diese Ausscheidung während der ersten Woche nur wenige Procente der Fettmenge betrifft, von da ab aber rasch fortschreitet, so dass nach 3—4 Wochen 30—40% ausgeschieden sein können, die sich durch heftiges Schütteln, selbst unter Erwärmung über den Schmelzpunkt des Butterfettes nicht wieder in die Form feinster Butterkügelchen zurückführen lassen.

Es ist mir damals nicht möglich gewesen, die Ursachen dieser Erscheinung genauer zu präcisiren, ich vermochte vielmehr nur die Annahme zurückzuweisen, dass die Erhitzung beim Sterilisiren die Fettkügelchen zum Zusammenfliessen bringe, denn in den ersten Tagen nach dem Sterilisiren ist ausgeschiedenes Fett nicht nachzuweisen; auch konnte eine andere Vermuthung als irrig bezeichnet werden, dass etwa Bacterieneinwirkung die

1) a. a. O., S. 312.

Ursache sei (bei unvollkommener Abtödtung aller Keime); denn auch in jahrealter, vollkommen keimfrei gebliebener Milch war die Erscheinung jederzeit zu beobachten. Ich hielt es daher für geboten, den Ursachen des in wissenschaftlicher Beziehung, noch mehr aber in praktischer Richtung bedeutsamen Vorganges näher nachzugehen.

Da chemische Veränderungen in der Milch beim Aufbewahren nicht oder nur in ganz untergeordnetem Maasse einzutreten scheinen, soferne nur die Milch durch die Sterilisirung auch wirklich keimfrei geworden ist, so lag es nahe, vor Allem physikalische Momente zur Erklärung des physikalischen Vorganges heranzuziehen und ergaben sich zunächst Untersuchungen über den Einfluss der Bewegung und dann über den der Temperatur als aussichtsvoll.

Es ist bekannt, welchen Einfluss das Schlagen der Milch beim Buttern hat. Konnten nicht auch so geringe Bewegungen, wie die Erschütterungen, die in jedem bewohnten Hause durch die Thätigkeit der Bewohner oder von der Strasse her unterhalten werden, bei genügend langer Dauer etwas Aehnliches bewirken?

Um dieser Frage näher zu treten, sterilisirte ich in einer ersten Versuchsreihe Milch in einer Anzahl von Soxhletfläschchen à 250 cbm Inhalt eine Stunde lang und hing 6 von den Fläschchen, um möglichst alle Erschütterungen fern zu halten, an ca. 1,5 m langen Gummischläuchen auf, während 4 andere durch Einhängen in ein Wasserrad, das sich langsam umdrehte (1 Umdrehung in 2—6 Minuten) in ständiger Bewegung erhalten wurden.

Nach 4 Fettbestimmungen mittels der Soxhlet'schen aräometrischen Methode hatte die Milch vor dem Sterilisiren einen Fettgehalt von 3,46, 3,43, 3,43, 3,46; im Mittel also von 3,445 %.

Nach 14 Tagen wurde der Versuch unterbrochen, die Milch in jedem Fläschchen auf 60° erwärmt, tüchtig durcheinander geschüttelt und in einen Scheidetrichter eingegossen. Nach 10 Minuten liess ich, abweichend gegen früher, nicht sofort die 200 ccm, welche zur Fettbestimmung nöthig waren, ablaufen, sondern etwas mehr, kühlte diese 220—230 ccm auf 17,5° C. ab

und entnahm erst aus der abgekühlten Menge die erforderlichen 200 ccm, um so den Einfluss zu hoher Temperatur auf das Volumen auszuschliessen. Die so erhaltenen Resultate waren folgende.

Der Gehalt an emulgirten Fette betrug:

	A. bei der bewegten Milch	B. Bei der unbeweglich aufgehangenen Milch
	2,88 %	2,26 %
	2,70 »	2,12 »
	2,77 »	2,47 »
	2,76 »	2,49 »
		2,61 »
	—	2,58 »
im Mittel	2,778 %	2,422 %

Aus der Emulsion waren somit ausgetreten pro Liter:

bei A. 34,45 — 27,78 g = 6,67 g
» B. 34,45 — 24,22 » = 10,23 »

oder in Procenten des ganzen Milchfettes berechnet

bei A. 19,36 %
bei B. 29,69 »

Dieser erste Versuch hat somit gerade das Gegentheil von dem bewiesen, was erwartet worden war: unter dem Einflusse der Bewegung war die Fettausscheidung wesentlich geringer als bei möglichster Aufhebung jeder Erschütterung; alle übrigen Verhältnisse waren vollkommen gleich gewesen.

In einem zweiten Versuche, in welchem Milch von 2,975% Fett (Mittel aus 4 gut übereinstimmenden Analysen) zur Verwendung kam, wurde wieder die Milch in Portionen à 250 ccm sterilisirt; nach dem Erkalten stellte ich 5 Fläschchen auf ein an möglichst langen Gummischläuchen hängendes Brett, 6 andere wurden auf ein Brett gestellt, das durch einen Klopfapparat in der Minute 16—20 mal erschüttert wurde und 6 weitere Flaschen band ich an das Wasserrad, dessen Geschwindigkeit diesmal so regulirt war, dass in der Minute eine Umdrehung gemacht wurde

Nach 14 Tagen erfolgte die Untersuchung der ausgeschiedenen Fettmengen in der angegebenen Weise. Hierbei ergaben die Fettbestimmungen

A. bei der unbeweglich aufgehangenen Milch: 1,53, 1,84, 2,20, 1,97 und 2,18%; im Mittel 1,944% Fett;

B. bei der geklopften Milch: 2,79, 2,75, 2,79, 2,80, 2,78, 2,78; im Mittel also 2,782% und

C. bei der 2mal in der Minute umgeschüttelten Milch: 2,75 2,73: 2,79 und 2,76, im Mittel 2,758%.

Daraus berechnet sich eine Fettausscheidung von

A. 29,75 g bis 19,44 g = 10,31 g pro 1 l
B. 29,75 » » 27,82 » = 1,93 » » » »
C. 29,75 » » 27,58 » = 2,17 » » » »

oder auf den Gesammtfettgehalt berechnet:

A. bei Ausschluss der Bewegung = 34,65%
B. bei fortgesetzter Erschütterung = 6,49 »
C. » » Umdrehung = 7,29 »

Somit hat auch die zweite Versuchsreihe das gleiche Resultat gehabt wie die erste und gelehrt, dass Ruhe die Ausscheidung des Fettes begünstigt, Bewegung dieselbe verhindert. Es hat sich hierbei als ziemlich gleichgültig erwiesen, ob die Bewegung im Klopfen der aufrecht stehenden Fläschchen oder in langsamem Umschütteln derselben bestand.

Da dieses Resultat den gemachten Voraussetzungen direct zuwiderlief, erachtete ich es für geboten, die Versuche noch weiter auszudehnen, um auch den Einfluss heftigerer Bewegungen, als der bisher angewendeten, kennen zu lernen.

Zu diesem Zwecke wurden zunächst 6 Flaschen sterilisirter Milch, welche ich dem freundlichen Entgegenkommen des Herrn Bolle in Berlin verdankte, an die Speichen des erwähnten Wasserrades gebunden und dieses so schnell in Bewegung erhalten, dass es 18—19mal in der Minute sich umdrehte.

Schon nach 2 Tagen waren in den Flaschen Butterkügelchen zu sehen. 2 Flaschen, welche nach dieser Zeit abgebunden und in gewohnter Weise untersucht wurden, zeigten einen Gehalt an

emulgirtem Fett von 1,08 und 1,14 %, im Mittel von 1,11 %, während die sterilirirte Milch, wie sie aus Berlin 14 Tage vorher eingetroffen war, einen solchen von 3,11 % (Mittel aus 4 gut übereinstimmenden Analysen) gezeigt hatte.

Es waren somit ausgeschieden worden

$$31,1 - 11,1 = 20,0 \text{ g Fett pro Liter}$$

oder 64,31 % des Gesammtfettgehaltes.

An Stelle der untersuchten beiden Milchflaschen wurden 2 andere an das Rad gebunden und diese mit den übrigen genau 24 Stnnden mit gleicher Geschwindigkeit, wie vorher, bewegt; nach dieser Zeit fand sich noch emulgirtes Fett in Mengen von 2,77 und 2,74 % vor, im Mittel 2,755 %, was einer Fettausscheidung von 31,1 — 27,55 = 3,55 g pro Liter oder 11,41 % des Gesammtfettes entspricht.

Die übrigen von Beginn des Versuches an in Bewegung erhaltenen Flaschen wurden noch mehrere Tage in gleicher Weise bewegt (19 Umdrehungen des Rades in 1 Minute) und zu verschiedenen Zeiten abgenommen und untersucht. Nach 6tägiger Bewegung fanden sich in einem Falle nur mehr 0,87 % Fett in Emulsionsform, nach 9tägiger 0,75 %, nach 12 Tagen 0,57 % und nach 16 Tagen 0,46 %.

Ich stelle alle diese Resultate im nachfolgender Tabelle, zugleich mit den ausgeschiedenen Fettmengen pro Liter und in Procenten des Gesammtfettgehaltes zusammen.

Dauer der Bewegung	Fett		
	in Emulsion	ausgeschieden	
	in 1 l	in 1 l	
Nach 1 Tag . . .	27,55 g	3,55 g	11,4 %
» 2 Tagen . .	11,10 »	20,0 »	64,3 »
» 6 » . .	8,70 »	22,4 »	72,0 »
» 9 » . .	7,50 »	23,6 »	75,9 »
» 12 » . .	5,70 »	25,4 »	81,7 »
» 16 » . .	4,60 »	26,5 »	85,2 »

Als Hauptergebnis dieser Versuchsreihe ist somit anzusehen, dass es eine Grenze für die Intensität der Bewegung gibt, über

welche nicht hinausgegangen werden darf, wenn nicht gerade das Gegentheil bewirkt werden soll, von dem was in den vorhergehenden Versuchsreihen durch Bewegung erzielt worden war. Hatte damals langsames Umschütteln der Milch oder klopfende Erschütterung das Milchfett vor Austritt aus der Emulsionsform bewahrt, so wurde diesmal durch 18—19 mal häufigeres Umschütteln das gerade Gegentheil erreicht, die Milch wurde ausgebuttert und zwar fanden sich auch bei späteren Wiederholungen des Versuches zum Zwecke der Gewinnung grösserer Buttermengen fast in jeder Flasche 2 ziemlich gleich grosse Butterkugeln, selten 3, niemals eine.

Quantitativ erwies sich daher die intensivere Bewegung der Flaschen in Bezug auf Ausscheidung des Fettes viel wirksamer als möglichste Ruhe; in vorstehender Versuchsreihe war schon nach 2 Tagen mehr Fett ausgeschieden als bei Ruhe nach mehreren Wochen; sieht man jedoch von der quantitativen Seite ab, so haben grösste Ruhe und heftigste Bewegung wenigstens ähnlichen Effect, indem sie die Ausscheidung begünstigen, während die quantitativ zwischen diesen beiden Einwirkungen stehenden geringen Bewegungen, langsames Umschütteln und klopfende Erschütterung geradezu schützend wirken.

Dieses, auf den ersten Blick überraschende Verhältniss erklärt sich leicht, wenn man noch einen anderen Factor, der in der Milch thätig ist, in Betracht zieht, den Auftrieb des Fettes, bedingt durch dessen geringeres specifisches Gewicht.

Bei Ausschluss jeder von aussen wirkenden Bewegung bewirkt der Auftrieb des Fettes zunächst die Bildung der Rahmschichte, dann aber und zwar sehr langsam, so langsam, dass es eben bei nicht sterilisirter Milch nicht beobachtet werden kann, ein Aneinanderlagern und schliesslich Zusammenfliessen der flüssigen Fettkügelchen, die dabei aus dem flüssigen Aggregatzustande in den festen übergehen, soferne nicht die umgebende Temperatur höher ist als der Schmelzpunkt des Butterfettes, was wohl nur selten vorkommen dürfte. So erklärt es sich, warum die in Flaschen mit sterilisirter Milch schon bald nach dem Sterilisiren sich bildende Rahmschichte allmählich immer fester wird, so dass sie

schliesslich den Hals der Flaschen wie ein Propf verschliesst. Schüttelt man nach dem Sterilisiren die Flaschen häufig und ohne Anwendung grosser Kraft um, so verhütet man sowohl die Bildung von Sahne, wie auch die Ausscheidung von Fett, der Effect des Auftriebes wird dadurch aufgehoben.

Dass sehr geringe Kraft nur nöthig ist, dies zu erreichen, zeigen die erwähnten Klopfversuche, bei denen die Wirkung des Auftriebes nicht völlig aufgehoben wurde, denn es bildete sich eine deutlich abgegrenzte Rahmschichte auf den geklopften Flaschen; allein die angewandten Erschütterungen reichten aus, das Zusammenfliessen der Fetttröpfchen in ihr nahezu völlig zu verhindern, die Rahmschichte blieb flüssig, wie frischer Rahm.

Wendet man andererseits heftigere Bewegungen an, so kommt es natürlich nicht zur Bildung einer Sahneschichte, allein die Milch wird dann mit solcher Gewalt an die Gefässwände geschleudert, dass dort Fettröpfchen zusammenfliessen und Butterkügelchen daraus werden. Es hat sich jederzeit ganz deutlich gezeigt, dass an den Gefässwänden der in Umdrehung begriffenen Flaschen erst kleine Partikelchen sich ansetzten, die später verschwunden waren, wenn in der Milch linsengrosse Butterklümpchen bemerkt wurden. Es scheint mir nicht unwahrscheinlich, dass die fast in jeder Flasche mit sterilisirter Milch zu beobachtenden, der Wand fest anhaftenden Flämmchen, — Ausscheidungen von Eiweiss, wie sie auch auf der Oberfläche gekochter Milch als Häutchen auftreten — die Butterbildung wesentlich begünstigen.

Die beschriebenen Versuche verdienen insoferne noch weiteres Interesse, als in ihnen Butter aus ganzer Milch ohne Abrahmung und ohne Säuerung nur durch mechanische Einwirkung gewonnen wurde. (Die Reaction der Milch wurde jedesmal beim Oeffnen der Flaschen geprüft und amphoter befunden.)

Nebenbei sei bemerkt, dass die Ausbeute an Butter eine, wenn auch schwankende, so doch ziemlich ergiebige war. Während man nach den Erfahrungen im Molkereiwesen zur Gewinnung von 1 kg Butter 24—30 l Milch benöthigt, berechnete sich in 5 ad

hoc ausgeführten Versuchen mit steriler Milch eine Ausbeute von 1 kg Butter auf 28,4 bis 33,6 l, im Durchschnitte auf 32,7 l Milch.

Die so gewonnene Butter erwies sich bei Kostproben, welche von verschiedenen Personen vorgenommen wurden, als ein Fett von wenig ausgesprochenem Geschmack; es fehlt ihr das Aroma der auf gewöhnlichem Wege aus frischer Sahne hergestellten Butter.

Erwähnung verdient endlich noch, dass das aus der Butter gewonnene Butterfett deutlich nachweisbare Mengen freier Fettsäure enthielt. In vier Versuchen mit der gleichen Milch (von Bolle) wurden gefunden: 0,60, 0,74, 0,79 und 0,84; im Mittel 0,745 Ranciditätsgrade.

Ich gehe nun zu den Versuchen über den Einfluss der Temperatur auf die Fettausscheidung beim Aufbewahren sterilisirter Milch über.

Vorweg sei kurz wiederholt, was schon in der ersten Abhandlung Erwähnung gefunden hat, dass die Erhitzung beim Sterilisiren einen merklichen Einfluss nach dieser Richtung nicht äussert, denn mittels der von mir angewandten Methode habe ich nach dem Sterilisiren jederzeit die gleiche Menge emulgirten Fettes nachweisen können, wie vorher.

In den sofort zu beschreibenden Versuchen habe ich zuerst den Einfluss niederer Temperatur zu prüfen gesucht.

Die oben als zweite aufgeführte Versuchsreihe, welche den Einfluss geringer Erschütterungen und langsamen Umschüttelns im Vergleiche mit möglichster Ruhe zum Gegenstande gehabt hatte, war auch zur Prüfung des Einflusses niederer Temperatur dahin erweitert worden, dass 6 Fläschchen der gleichen sterilisirten Milch in einem wohlverschlossenen Blechtopfe 14 Tage lang im Kühlraume des Hallenser Schlachthauses aufgestellt und so einer Temperatur zwischen +2 und + 5° C. ausgesetzt wurden. Nach Ablauf der 14 Tage wurde die Milch in üblicher Weise untersucht und fanden sich in den sechs Proben noch folgende Mengen emulgirten Fettes pro Liter: 27,8 27,9, 27,9, 28,0, 28,0 und 28,1; im Mittel also 27,95 g. Mithin waren aus-

geschieden: 29,75—2795 = 1,8 g oder 6,05% des ursprünglichen Fettgehaltes.

Von den übrigen, während der gleichen Zeit bei Zimmertemperatur gehaltenen Proben hatten die in möglichster Ruhe gehaltenen eine Fettausscheidung von 34,65, die geklopften eine solche von 6,49, und die langsam geschüttelten von 7,29% ergeben, so dass man also nach obigem Resultate sagen kann, dass niedere Temperaturen in der Nähe des Gefrierpunktes den gleichen Effect haben wie geringe Bewegung; sie erweisen sich ebenfalls als Schutz gegen die Fettausscheidung.

In einer zweiten Versuchsreihe kam Milch mit einem Fettgehalte von 2,475% (Mittel aus 4 gut stimmenden Analysen) zur Verwendung. 10 Fläschchen der gut sterilisirten Milch wurden nach dem Erkalten in ein Wasserbad eingestellt, dessen Temperatur durch constanten Wasserzufluss auf 10—12° C. erhalten wurde, 10 Fläschchen der gleichen und unter den gleichen Verhältnissen sterilisirten Milch setzte ich in ein Wasserbad mit constanter Temperatur von 41—42° C.

Nach 7 Tagen war schon für das Auge ein erheblicher Unterschied zwischen den kalt und warm gehaltenen Fläschchen erkenntlich, die Milch in den letzteren war dunkler geworden, in ersteren dagegen vollkommen weiss geblieben.

Auch beim Erwärmen der Milch auf 60° C. zeigte sich ein deutlicher Unterschied, die kalt gehaltene Milch blieb frei von Fettaugen, während auf der Milch aus dem warmen Wasserbade grosse Fettaugen schwammen.

Die Bestimmung des emulgirten Fettes ergab

	bei Milch aus dem kalten Bade	bei Milch aus dem warmen Bade
	2,34 %	1,77 %
	2,34 »	1,77 »
	2,40 »	1,91 »
im Mittel	2,360 %	1,817 %

woraus sich eine Fettausscheidung von 4,64 %, bzw. 26,59 % berechnet.

Nach weiteren 8 Tagen wurden wieder 3 Flaschen aus dem kalten Bade und 6 aus dem warmen Bade untersucht. Es fanden sich noch an emulgirtem Fett

	bei Milch aus dem kalten Bade		bei Milch aus dem warmen Bade
	2,30 %		1,45 %
	2,32 »		1,49 »
	2,40 »		1,50 »
im Mittel	2,34 %		1,60 »
			1,63 »
			1,65 »
		im Mittel	1,553 %

und berechnet sich daraus eine Fettausscheidung von 5,45 % bei 10—12° nnd von 37,25 % bei 41°.

Das Ergebnis der zweiten Reihe bestätigte somit das der ersten insoferne, als wieder unter dem Einfluss der geringeren Temperatur beträchtlich weniger Fett aus der Emulsion ausgetreten ist, als bei höherer Wärme. Auch stimmt damit überein, dass in der zweiten Reihe entsprechend einer höheren Temperatur von 41° eine höhere Fettausscheidung gefunden wurde, 37,25 %, als in der ersten Versuchsreihe, wo bei einer Zimmertemperatur von 34,65 % vom Gesammtfett ausgetreten waren.

Vergleicht man aber beide Versuchsreihen bezüglich des Einflusses der niederen Temperaturen — im einen Falle 2—5° und im anderen Falle 10—12° miteinander, so stehen die beiden entsprechenden Mengen ausgeschiedenen Fettes im umgekehrten Verhältnisse und widersprechen, wie es auf den ersten Blick erscheint, der eben aufgestellten Regel. Es ist dies jedoch nur scheinbar, wenigstens lässt sich eine Erklärung dafür in dem verschiedenen Fettgehalte der in beiden Fällen angewendeten Milch finden. In der ersten Versuchsreihe war solche mit 29,75 g Fett im Liter zur Verwendung gekommen in der zweiten dagegen Milch mit nur 24,75 g, es ist wohl kaum zu zweifeln, dass fettreichere Milch, in welcher die Fettkügelchen näher beieinander liegen, procentisch mehr Fett ausscheiden wird, als fettärmere;

bedient man sich doch auch beim Buttern des Kunstgriffes, Milch fettreicher zu machen, indem man sie in Sahne und Magermilch zerlegt und nur die erstere schlägt, um so eine höhere Ausbeute zu erzielen.

Ich stehe nicht an, darin auch, zum Theile wenigstens, den Grund zu suchen, warum der Unterschied in der Fettausscheidung bei hoher Temperatur zwischen den beiden Versuchsreihen nicht grösser ausgefallen ist.

In der ersten Versuchsreihe waren bei Zimmertemperatur 34,65% Fett aus der Emulsion ausgetreten, in der zweiten bei bedeutend höherer Temperatur von 41° in der gleichen Zeit um 37,32%; im ersteren Falle betrug der ursprüngliche Fettgehalt der frischen Milch 29,75, im letzteren nur 24,75 g. Es kommt hier aber noch etwas anderes hinzu; in der ersten Versuchsreihe waren die bei Zimmertemperatur gehaltenen Fläschchen durch Aufhängen an langen Gummischläuchen möglichst vor Erschütterungen geschützt gewesen, was nach den Eingangs geschilderten Versuchen den Fettaustritt begünstigt; in der zweiten Reihe dagegen standen Flaschen ohne solchen Schutz vor Erschütterung in einem vielbenutzten Laboratorium, so dass man gewiss zur Annahme berechtigt ist, dass, wenn auch in diesem Falle alle Erschütterungen ausgeschlossen worden wären, die Fettausscheidung wohl viel bedeutender ausgefallen wäre.

Ich glaube also, man wird die beiden eben angeführten der Erwartung widersprechenden Thatsachen nicht als Einwände gegen die Regel, dass unter dem Einflusse höherer Temperatur die Ausscheidung des Fettes schneller erfolgt, als bei geringer, ausspielen können. Ich habe diese Regel noch öfters bestätigt gefunden, auch bei der früher erwähnten Milch von Bolle in Berlin. Die Mehrzahl der Flaschen war nach der Ankuft in Halle in den Keller gestellt worden, einige wenige blieben im Laboratorium stehen, wo während der Monate Mai und Juni die Temperatur jedenfalls höher anstieg als im Keller. Nach 7 Wochen betrug die Ausscheidung des Fettes bei der im Keller gestandenen Milch 31,1—20,35 = 10,75 g pro Liter oder 37,57 %, bei der aus dem Laboratorium 59,81 % des ursprünglichen Fettgehaltes.

Es kann daher nicht wohl daran gezweifelt werden, dass geringere Temperaturen dem Austritte des Fettes hinderlich sind, hohe dagegen die Ausscheidung begünstigen.

Die vorliegenden Versuche gestatten meines Erachtens die Temperaturgrenze, welche innegehalten werden sollte, um das Fett möglichst vor Ausscheidung zu bewahren, näher zu fixiren. Sie liegt offenbar unter 10° C., denn bei Einhaltung einer Temperatur von 10—12° war eben noch vom 8. bis zum 15. Tage eine geringe Zunahme der ausgeschiedenen Fettmengen beobachtet worden, die Grenze muss daher unter dieser Temperatur liegen. Lässt sich auch, wie es den Anschein hat, selbst bei Temperaturen nahe dem Gefrierpunkte die ganze Fettmenge nicht in der Emulsion erhalten, so ist die Menge des ausgeschiedenen Fettes doch so gering, wenigstens im Hinblicke auf die Ergebnisse bei höherer Temperatur, dass darauf nicht allzu grosses Gewicht gelegt werden kann.

Es fragt sich nun, wie die beschriebene Einwirkung der Temperatur wohl zu erklären sei; ich glaube, man wird die Frage vorerst nicht wohl anders beantworten können, als dass bei höherer Temperatur die Dichtigkeit, sowohl des Fettes, als auch die der Fetttröpfchen einschliessenden Flüssigkeit geringer ist, als bei niederer Temperatur und dass dadurch das Zusammenfliessen der Tröpfchen wesentlich unterstützt wird. Ich habe ausdrücklich das Wort vorerst gebraucht, denn es erscheint mir nicht unmöglich, dass auch Veränderungen des Eiweisses und des Milchzuckers in der Milch, die sich allmählich geltend machen, das Fett beeinflussen können. Gewisse Erfahrungen bei Ausführung der vorliegenden Untersuchungen deuten darauf hin, dass vor Allem unter dem Einflusse der Temperatur Veränderungen des Eiweisses und Milchzuckers vorkommen; so zeigte sich schon dem blossen Auge die 14 Tage bei 41° erhaltene Milch dunkler (bräunlich) gefärbt, als solche die bei Zimmertemperatur oder im kalten Wasser gleich lange Zeit gestanden war. Noch mehr aber und schärfer trat dieser Unterschied hervor, wenn bei Ausführung der aräometrischen Fettbestimmung nach Soxhlet der Milch Kalilauge zugesetzt wurde. Es trat alsdann bei Milch,

welche höherer Temperatur ausgesetzt worden war, immer ein anderer, dunklerer Farbenton auf — bräunlich mit einem Stiche ins Rothe — als bei der kälter aufbewahrten, auch wenn vor dem Zusatz der Kalilauge ein Farbenunterschied nicht zu erkennen war. Dass nicht eine Umwandlung des Milchzuckers allein eine Art Caramelisirung, wie man vielfach annahm, diese Farbenveränderungen zu Wege bringt, sondern dass auch das Eiweiss unter der Einwirkung höherer Temperatur seine Farbe ändert, geht daraus hervor, dass, wenn man durch stundenlanges Erhitzen braun gefärbte Milch coagulirt und das Coagulum mit Wasser gut auswäscht, es braun gefärbt bleibt, während das Filtrat nur wenig gelblich gefärbt erscheint.

Leider weiss man zur Zeit über diese Veränderungen der Eiweisskörper in der Milch recht wenig, und vor allem auch nichts darüber, ob dieselben die Fettausscheidung zu beeinflussen vermögen; man wird sich daher damit begnügen müssen, die oben angegebene Erklärung als ausreichend anzusehen.

Der Vollständigkeit halber will ich noch eines Versuches Erwähnung thun, welcher darüber orientiren sollte, ob nicht die Höhe der Schichte und die relative Grösse der Oberfläche modificirend auf den Vorgang der Fettausscheidung einzuwirken im Stande seien, da diese Momente beim Aufrahmen der Milch von Bedeutung sind.

Ich habe zu dem Behufe 10 Fläschchen sterilisirte Milch, auf einem durch lange Gummischläuche gehaltenen Brette geschützt gegen Erschütterungen, 14 Tage lang aufbewahrt; die Hälfte, also 5 Fläschchen, blieben aufrecht stehen, die anderen lagen, so dass in den ersteren die Höhe der Milchschichte 13,8 cm, die Oberfläche 15,2 cm betrug, während in den letzteren die Milch eine Höhe von 4 cm und eine Oberfläche von 46 cm hatte. Nach 14 Tagen wurden sämmtliche Fläschchen in gewohnter Weise untersucht. Der Fettgehalt war jedoch zwischen den beiden Gruppen so wenig verschieden, dass sich daraus keine Veranlassung ergab, nach dieser Richtung hin noch weiter vorzugehen. Die Milch in den aufrecht stehenden Flaschen zeigte

einen Fettgehalt von durchschnittlich 3,044 %, die in den umgelegten Flaschen 3,058 %, so dass man von einem einigermaassen beachtenswerthen Unterschiede nicht sprechen kann.

Ich schliesse hiermit die Versuche über Fettausscheidung in der sterilisirten Milch vorläufig ab; ich bin mir wohl bewusst, dass noch nicht alle Factoren, welche Einfluss haben können, genauer untersucht sind; so hätte ich gerne den Einfluss verschiedener Zusammensetzung der Milch (verschiedener Fettgehalte, verschiedener Viscosität u. s. f.) in den Kreis der Untersuchungen einbezogen; allein äussere Verhältnisse, die Uebernahme neuer Aemter und Pflichten in Dresden zwangen mich, diese Untersuchungen vorläufig zurückzustellen. Immerhin dürfte die Ausbeute der Untersuchungen über den Einfluss von mechanischer Bewegung und Temperatur lohnend genug erscheinen, um jetzt schon mitgetheilt zu werden.

Die Zusammensetzung der Cholerabacillen.

Von

Dr. E. Cramer,
Privatdocent.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität zu Heidelberg.)

Ueber die Zusammensetzung der Spaltpilze, über ihren Wasser-, Eiweiss-, Aschegehalt etc. war bis in die neueste Zeit nur wenig bekannt. Das Wenige, was bekannt war, liess sich mit einander schlecht in Einklang bringen. Es schien, als ob zwischen den Analysen von Bacterien der einzelnen Autoren viel grössere Differenzen vorhanden seien, als man bei Bacterien nach Analogie der höher im System stehenden Pflanzenklassen annehmen und erwarten durfte.

Es gelang nun den Nachweis[1]) zu liefern, dass die Bacterien ein ausgesprochenes Vermögen besitzen, sich in ihrer Zusammensetzung dem jeweiligen Nährmaterial, auf dem sie gewachsen sind, anzupassen. Man kann bei den Spaltpilzen nicht wohl von einer typischen Zusammensetzung enden. Die Zusammensetzung derselben ist nur dann eine typische, eine gleichmässige, wenn die Nährmaterialien wenigstens annähernd dieselben, und ausserdem gleichmässige Wachsthumsbedingungen: Temperatur, Wachsthumsdauer, Aussaat etc. vorhanden sind. Die Abhängigkeit vom Nährmaterial ist innerhalb gewisser Grenzen eine derartige, dass der Experimentator es in der Hand hat, die Zusammensetzung der Spaltpilze nach seinem Willen zu gestalten. Bietet er den

1) Cramer, Archiv f. Hygiene, Bd. XVI.

Bacterien im Nährmaterial mehr lösliches Eiweiss, Pepton oder Albumosen, so wird auch der Bacterienzellenleib eiweissreicher. Bietet er in dem Nährboden mehr Mineralsubstanzen, so enthalten die Bacterien mehr Asche etc.

Diese eigenthümlichen Eigenschaften waren zunächst nachgewiesen für 4 Bacterienarten: einen reinen Sagrophyten den Bac. Nr. 28 aus Marburg, einen thierpathogenen, den Bac. capsulatus v. Pfeiffer, zwei menschenpathogene, den Bac. pneumoniae v. Friedländer, und den Bac. rhinoskleromae v. Paltauf.

Es war nun jedenfalls von Interesse und von Wichtigkeit, dieses eigenthümliche Anpassungsvermögen der Bacterien an das Nährmaterial auch zu constatiren für menschenpathogene Spaltpilze, welche ausser ihrer parasitischen Thätigkeit im menschlichen Körper noch im Stande sind, ausserhalb desselben im Wasser, im Boden unter günstigen Bedingungen sagrophytisch ihr Dasein zu fristen. Es handelt sich um die Erreger des Typhus und der asiatischen Cholera.

Im menschlichen Körper, während ihres parasitischen Zustandes, steht ihnen reichlich Nährmaterial, vor allem reichlich Eiweiss zu Gebot; im Wasser, im Boden, seien sie auch noch so mit organischen Substanzen, mit Mineralstoffen des menschlichen und thierischen Haushaltes verunreinigt, wird das Nährmaterial ein sehr spärliches zur Erhaltung des Lebensprocesses eben ausreichendes sein. Es müssen die genannten Bacterien ein ausgesprochenes Vermögen besitzen, sich in ihrer Zusammensetzung dem jeweiligen Nährmaterial zu adaptiren.

Die nachstehenden Untersuchungen beziehen sich nur auf die Zusammensetzung der Erreger der asiatischen Cholera. Es liegt dies in dem rein äusseren Umstande, dass von den Kommabacillen leichter Material zu erhalten war, als von dem weniger üppig wachsenden Typhusbacillus.

Ich wählte unter den mir zu Gebote stehenden Cholerabacillen verschiedener Provenienz 5 verschiedene aus:

1. Kommabacillus von asiatischer Cholera, wahrscheinlich seit 1884 im Institute fortgezüchtet.

2. Kommabacillus von Shanghai, bereits seit mehreren Jahren im Institute des Herrn Prof. Gaffky gezüchtet.

3. Kommabacillen aus der Pariser Epidemie, Juli 1892.

4. Kommabacillen aus der Hamburger Herbstepidemie 1892.

5. Kommabacillen aus der Hamburger Winterepidemie 1893.

Die verschiedenen Kulturen verdanke ich der Güte des Herrn Prof. Fränkel. Es sei mir gestattet, ihm an dieser Stelle meinen Dank dafür abzustatten.

Die Auswahl von Kommabacillen von verschiedener Provenienz erfolgte in der Absicht, eventuell Unterschiede in der Zusammensetzung der verschiedenen Cholerastämme nachzuweisen, je nachdem dieselben auf mehr oder minder günstigem Nährhoden gewachsen waren. Es schien mir bis zu einem gewissen Grade wahrscheinlich, dass die Kommabacillen, welche schon länger auf künstlichem Nährboden gewachsen waren, in der Auswahl der Stoffe zur Zusammensetzung ihres Zellenleibes weniger wählerisch sein würden als solche, welche erst vor kurzem durch Züchtung aus dem menschlichen Körper erhalten waren, und dass diese geringere Anspruchslosigkeit an das Nährmaterial in der Zusammensetzung des Bacterienzellleibes mehr oder minder deutlich gegenüber den andern Arten zum Vorschein kommen würde. Ich hoffte so einige Beiträge zur Biologie der Cholerabacillen liefern zu können.

Ehe ich die Resultate meiner Untersuchungen mittheile, möchte ich einiges Methodische kurz erwähnen.

Was zunächst die Methoden zur Gewinnung von tadellos reinem Bacterienmaterial ohne Verunreinigung durch Nährmaterial oder Stoffwechselproducte betrifft, so wäre darüber zunächst zu bemerken, dass eine vollständig einwandfreie Methode zur Zeit nicht existirt.

Zur besseren Uebersicht stelle ich die für unsere Zwecke in Frage kommenden Methoden kurz zusammen:

1. Abstreifen der Reinculturen von Nähragar oder Kartoffel oder andern Nährböden mittelst Scalpell oder Platinspatel.

2. Abgiessen oder Abheben der Nährbouillon von dem Cholerahäutchen, eventuell Abpressen oder Absaugen von Bouillonresten.

3. Centrifugiren von Bouillonculturen, Waschen des Sedimentes mit physiologischer Kochsalzlösung.

4. Die Bacterien, werden als eiweissreiche Körper durch eine Reihe von Eiweissfällungsmethoden aus Nährlösungen niedergeschlagen und zwar nach Rubner durch essigsaures Eisen, durch verd. H Cl nach Nencki oder noch besser durch Erhitzen der Bouillonculturen im strömenden Wasserdampf, Ansäuern mit verdünnter Essigsäure und nochmaliges Erhitzen auf freiem Feuer bis zum Aufwallen. Die Form der Kommabacillen bleibt dabei gut erhalten, auch sind dieselben Anilinfarbstoffen leicht zugänglich.

Am einwandfreiesten ist wohl das Verfahren 1 und 2. Verfahren 1 leidet bei der grossen Fläche (mindestens ½ qm), die man für jede Ernte anwenden muss, an dem Nachtheil, dass Luftinfectionen schwer zu vermeiden sind und häufig den ganzen Ernteertrag illusorisch machen. Benutzt wurden von mir Verfahren 2, 3 und 4. Die Vortheile und Nachtheile derselben werden wir im weiteren Verlaufe der Arbeit noch kennen lernen

Ausser den Methoden zur Gewinnung von reinem Bacterienmaterial verdiente der Nährboden auf dem die Kommabacillen wachsen sollten, die eingehendste Berücksichtigung und Erwägung.

Nährböden von bekannter und relativ einfacher Zusammensetzung schienen naheliegend. Doch war aus verschiedenen Gründen die Anwendung der üblichen Nährböden z. B. der Koch'schen Fleischinfuspeptonbouillon von etwas complicirterer, nicht ganz constanter und auch nicht in allen Theilen bekannter Zusammensetzung geboten.

Einmal ist alles, was bisher über die Biologie der Kommabacillen bekannt war, erhalten dadurch, dass man dieselben auf den Koch'schen Nährböden züchtete. Man kann sogar sagen, unser ganzes heutiges Gebäude der Bacteriologie ist gegründet auf diese Nährböden. Es war daher zweckmässig auf diesem bereits bekannten Gebiete weiter zu bauen.

Dann musste ich darauf sehen, dass meine Analysen in Vergleich zu bringen waren mit den bereits bekannten Analysen. Diese Analysen sind aber, soweit sie einwandfrei sind, erhalten

durch Wachsthum von Bacterien auf Koch'schen Nährböden (speciell Nähragar). Es war also auch aus diesem Grunde die Verwendung von Nährbouillon, da das Agar ja nur als Gerüstmasse nicht als Nährmaterial dient, naheliegend.

Endlich kam noch in Frage der Preis des Nährbodens. Eine Reihe neuerer Nährmaterialien so z. B. auch die Kühne'sche Nährlösung[1]), die wie ich mich überzeugen konnte ein ausgezeichnet üppiges Wachsthum der Cholerabacillen hervorruft; erschweren ihre allgemeine Verwerthbarkeit dadurch, dass, wenn man viel Material verwenden will, der hohe Preis störend wirkt.

Ausser der Koch'schen Fleischinfuspeptonbouillon, welcher ich nach dem Vorgange von Dahmen[2]) in der einen Versuchsreihe und späterhin überhaupt einen Zusatz von 0,36% trocknen kohlensauren Natrons machte, verwendete ich noch den Nährboden von Uschinsky[3]) in etwas modificirter Form, in der Absicht, den Kommabacillen hier weniger günstige Bedingungen zu schaffen.

Die Uschinskylösung hatte folgende Zusammensetzung:

Wasser	1000,0
Michsaures Ammon . .	10,0
Asparagin	3,4
Glycerin	40,0
Kochsalz	5,0
Magnesiumsulfat . . .	0,2
Chlorcalcium	0,1
Kaliumbiphosphat . .	1,0

Neutralisirt wurde mit Kalilauge. Die Trockensubstanz dieser Nährlösung beträgt rund 5.5%, der Aschegehalt in der Trockensubstanz 11%.

Diese genau sterilisirten Nährlösungen goss ich in der Regel in sterilisirte Schalen, so dass die Flüssigkeitsschicht eine möglichst dünne war, höchstens 2—3 mm betrug, oder in sterilisirte Bechergläser mit darüber gestülpten Krystallisationsschalen.

1) Zeitschrift f. Biologie, Bd. XXX, S. 221.
2) Centralblatt f. Bacteriologie, Bd. XII, Nr. 18.
3) Centralblatt f. Bacteriologie, Bd. XIV, Nr. 10.

Nach einer Wachsthumsdauer von 3 Tagen wurde abgeerntet. Die Reincultur wurde theils durch das Plettenverfahren, theils durch das mikroskopische Ausstrichpräparat controlirt.

Dabei waren in dem mikroskopischen Ausstrichpräparat je nach den verschiedenen Nährböden eigenthümliche Veränderungen der Kommabacillen zu constatiren, über die ich an dieser Stelle kurz das Nothwendige bemerken möchte. Auf der 1% igen Sodabouillon fanden sich meist nur äusserst wenige, spärliche typische Kommaformen, überwiegend ganz kurze ovale Gebilde, die von Coccen nicht zu unterscheiden waren, sich mit wässriger Fuchsinlösung gut färbten. Bacteriologisch geschulte, aber nicht voreingenommene Beobachter erklärten derartige Präparate häufig für Ausstrichpräparate von Coccen. Auf Uschinskylösung und Sodabouillon, die durch Aufkochen mit essigsaurem Eisen von ihrem Gehalt an Albumose fast vollständig befreit war, zeigten die Kommabacillen eine wesentlich andere Gestalt. Typische, wohl ausgebildete Kommaformen traten hier mehr oder weniger in den Vordergrund; ausserdem aber fanden sich manchmal längere oder kürzere, vielfach verschlungene Fäden, die eine Zusammensetzung aus einzelnen Kommaformen, wie die typischen Spirillen, welche man sonst häufig im hängenden Tropfen oder in Bouillonculturen findet, in keiner Weise mehr erkennen liessen. Ich erwähne diese Befunde, weil neuester Zeit Gamalaja[1]) ähnliche, aber ausgesprochenere Gestaltveränderungen der Kommabacillen bei Züchtung auf lithionhaltigem Nährboden als Heteromorphismus beschrieben hat.

Die Gestaltveränderung war bei den von mir benutzten Nährböden keine dauernde. Durch Ueberimpfung auf normale Gelatine oder normales Nähragar erhielt ich wieder die typische Kommaform. Im Uebrigen waren zwischen den Kommabacillen

1) Heteromorphismus der Bacterien unter dem Einflusse von Lithiumsalzen. Wratsch Nr. 19 und 20, 1894. Referat s. Allgemeine Medicinalzeitung Nr. 59. Die Beobachtungen von Wiltschur (Centralblatt f. Bacteriologie, Bd. XVI, Nr. 4 und 5) erschienen erst, nachdem ich die wichtigsten Resultate der vorliegenden Untersuchungen im Naturhistorisch-medicinischen Verein zu Heidelberg bekannt gegeben hatte.

der verschiedenen Provienz ganz geringe, häufig auch nicht ganz constante, jedenfalls nicht sehr hoch anzuschlagende morphologische Differenzen vorhanden. Polfärbung wurde häufig beobachtet.

Das auf diese Weise erhaltene, sicher reine Bacterienmaterial wurde im Vacuum eventuell unter Zusatz von Chloroform bei 20—25°, häufig auch bei Bluttemperatur getrocknet, um dann weiterhin analysirt zu werden.

Als Methode zur Stickstoffbestimmung verwendete ich ausschliesslich die Kjeldahl'sche in der Wilfarth'schen Modification. Ihre Verwendbarkeit für bacterienhaltiges Material hatte ich bereits in einer früheren Arbeit[1]) dargethan.

Den Kohlenstoff bestimmte ich gleichzeitig mit dem Stickstoff nach der Rubnerschen Modification[2]) der Kjeldahlschen Methode, indem ich die bei Zerlegung im Kjeldahlkölbchen sich bildenden Gase, durch Waschen mit Chamäleonlösung von SO_2 befreite, die CO_2 in Pettenkofer'schen Barytröhren absorbirte und mit Oxalsäure titrirte. Dass diese bequeme und relativ einfache Methode mit der Elementaranalyse durch directe Verbrennung im Sauerstoffstrome auch für getrocknete Bacterien übereinstimmende Werthe liefert, lehrt ein Blick auf Tab. I.

Tabelle I.

Kohlenstoffbestimmung nach Kjeldahl-Rubner und durch directe Verbrennung.

	Nach Kjeldahl-Rubner C in %	Durch directe Verbrennung C in %	Deficit %
Rhinoskleromb.	48,52	51,81[3])	— 3,29
Rhinoskleromb.	48,66		— 3,15
Cholera alt	51,04	51,82	— 0,78
Cholera Paris	51,68	51,97	— 0,29

1) Cramer, a. a. O.

2) Rubner, Archiv f. Hygiene, Bd. XIV, S. 364.

3) Cramer, a. a. O.

Analytische Belege.

1. Rhinosklerombacillus:
 0,1252 g (0,1132 g aschefrei) Trockensubstanz = 0,0549 g C
 0,2006 g (0,1814 g aschefrei) Trockensubstang = 0,0883 g C

2. Cholera aft:
0,1825 g (0,1249 g aschefrei) Trockensubstanz = 0,0637 g C
0,1721 g (0,1178 g aschefrei) Trockensubstanz = 0,0610 g C = 0,0653 g H_2O

3. Cholera Paris:
0,2058 g (0,1383 g aschefrei) Trockensubstanz = 0,0719 g C
0,1640 g (0,1102 g aschefrei) Trockensubstanz = 0,056 g C = 0,0837 g H_2O.

Ausser der Bequemlichkeit und leichteren Handhabung gegenüber der Elementaranalyse bot die Rubner'sche Methode für mich namentlich den Vortheil der Materialersparnis. Ich musste diesen Vortheil um so mehr werth schätzen, als mir der Natur der Sache nach häufig nur ganz geringe Mengen von Bacterienmaterial zur Verfügung standen.

Da ich vielfach auch in der Lage war, Stickstoffbestimmungen zu machen in der von dem Bacterienhäutchen oder den gesammten Bacterien befreiten Bouillon, so konnte der salpetrige Säuregehalt derselben störend wirken. Es war dies übrigens nur bei den Reagensglasculturen der Fall. Bei den Culturen in Petrischalen oxydirte offenbar der leicht und reichlich zutretende Luftsauerstoff zu Salpetersäure und die minimalen Spuren derselben hatten keinen oder einen nur unwesentlichen Einfluss auf die Genauigkeit des Kjeldahl'schen Verfahrens. Bei den Reagensglasculturen, wo in Folge des geminderten Sauerstoffzutritt es die Störungen durch die salpetrige Säure sich stärker geltend machten, verfuhr ich so, dass ich Nitrate, und Nitrite mit Zink und Salzsäure zu Ammoniak reducirte und dann zerlegte. Die entstehenden Zahlen mussten nach den Untersuchungen Petri's[1]), welcher den Nitritgehalt in Choleraleptonkulturen zu 0,004 % schätzungsweise bestimmte, äusserst gering ausfallen und konnten daher vernachlässigt werden. Da mehr wie 200 ccm Bouillon von mir in keinem Falle reducirt wurden, betrug der Fehler noch kein Milligramm, selbst wenn ich auch noch den Nitratgehalt im Maximum mit 0,005 % in Anrechnung

1) Arbeiten aus dem Kaiserl. Reichsgesundheitsamt, Bd. VI, S. 17.

bringe. Eigene Controlversuche bestätigten noch die Richtigkeit meiner Annahme, so erhielt ich z. B. in einer bacterienhaltigen Bouillonkultur als Mittel von mehreren Stickstoffbestimmungen 190 mg nach Reduction der Nitrate und Nitrite zu Ammoniak 193 mg N, also eine zu vernachlässigende Differenz, andere Controlversuche gaben auch absolute Uebereinstimmung, niemals grössere Differenzen.

Meistens verfuhr ich so, dass ich Nährbouillon von bekanntem N-Gehalte benutzte, nach dem Abgiessen, event. dem Abpipettiren von dem Häutchen, oder nach dem Centrifugiren, endlich dem Ausfällen der Bakterien in den meisten Fällen mit essigsaurem Eisen den N-Gehalt abermals bestimmte. Auf diese Weise erhielt ich Aufschluss, nicht nur über die jedesmalige Stickstoff- resp. Eiweissproduction, sondern nach den Ergebnissen der später anzustellenden Analysen über die gesammte Bacterienproduction der jedesmaligen Ernte.

Das erste Untersuchungsmaterial wurde gewonnen durch Wachsthum auf normaler schwach alkalischer Bouillon, welche im Liter 10 g Grübler'sches Pepton, 5 g Kochsalz enthielt. Nur »Cholera alt« bildete ein kräftiges Häutchen, alle anderen Choleraarten wuchsen, die Bouillon gleichmässig trübend, meist ohne jede Spur von Häutchenbildung. Ich war daher gezwungen, das Material durch Centrifugiren zu gewinnen. Bei 2—2500 Umdrehungen centrifugirte ich ½ l immer in relativ kleinen Portionen. Um eine Verunreinigung des Bacteriensedimentes mit Nährmaterial oder mit Stoffwechselproducten zu vermeiden, wusch ich daselbe mit physiologischer Kochsalzlösung. Da wegen der herrschenden hohen Temperatur sich die Nothwendigkeit herausstellte, die Kulturen, um ein Weiterwachsen zu verhindern, vor dem Centrifugiren mit Chloroform abzutödten, war die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass Bacterieneiweiss in Lösung ging. In der That stellte sich später bei der vorgenommenen Analyse und bei eigens zu diesem Zwecke vorgenommenen Experimenten heraus, dass weitaus der grösste Theil des Bacterienzelleibes, hauptsächlich das Eiweiss, je nachdem eine grössere oder geringere Anzahl von Proben, aus welchen sich die Gesammternte zusammensetzte, mit

Chloroform abgetödtet und mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen war, in Lösung gegangen war.

Das ziemlich mühsam gewonnene Material erwies sich als ungeeignet, um über die Zusammensetzung der Komabacillen Aufschluss zu geben. Trotzdem war nach anderer Richtung das Resultat der Untersuchungen nicht ohne Belang.

Wie eben erwähnt, wurde das Bacterienmaterial derart gewonnen, dass die Nährbacillen, in ganz dünner Schichte von 2—3 mm Dicke in Petri'sche Schalen ausgegossen und dann inficirt wurde. Da die feuchte Kammer, in welcher die Schalen aufbewahrt wurden, nicht abgeschlossen war, sondern so construirt war, dass die Luft durch eine 5—6 cm dicke Schicht von feuchten Bimssteinstücken ungehindert circuliren konnte, war auf alle Fälle dem Sauerstoffe der Luft im ungehindertsten Maasse Zutritt zu der bacterienhaltigen Bouillon gewährt, jedenfalls konnte er die dünne Bouillonschicht mit Leichtigkeit durchdringen. Trotzdem somit die Wachsthumsbedingungen, für alle Choleraarten scheinbar die gleichen waren, zeigte sich doch ein wesentlicher Unterschied in der Stickstoffproduction je nachdem ein Bacterienhäutchen gebildet wurde oder nicht. Die alte Laboratoriumscholera, die einzige, welche ein Häutchen bildete, zeigt, wie ein Blick auf Tab. II lehrt, durchweg eine höhere Stickstoffproduction und auch allem Anscheine nach eine höhere Ernte an Bacterientrockensubstanz als die übrigen Choleraarten. Der einzige Unterschied zwischen den beiden Wachsthumsvorgängen war der, dass die Cholerabacillen sich in dem einen Falle — »Cholera alt« — im directen Contacte mit der atmosphärischen Luft befanden, in dem anderen — bei den 2 übrigen Cholerabacillen-Arten — durch eine Flüssigkeitsschicht von oft minimaler Dicke von der Luft getrennt waren. Es muss also der directe Contact mit der atmosphärischen Luft die Cholerabacillen in den Stand setzen, das Nährmaterial rücksichtlich seines Stickstofgehaltes und wahrscheinlich der assimilirbaren Stoffe überhaupt wesentlich besser auszunutzen, als wenn die Luft gezwungen ist, durch eine, wenngleich äusserst

dünne Flüssigkeitsschicht hindurchzudringen, um zu den Bacterien zu gelangen. Es erscheint mir nicht unwahrscheinlich, dass wir bei den Cholerabacillen eine Art Luftmycel annehmen dürfen mit einer directen Gasathmung, ähnlich wie bei dem Laube der höheren Pflanzen.

Tabelle II.
Elweissproduction auf normaler Nährbouillon.

Cholera	Stickstoff auf je 210 Bouillon in Gramm			
	im Häutchen	durch Centrifugiren	durch Eisenfällung	Summe
alt	0,065	0,068	0,085	0,217
	0,071	—	0,032	0,103
	0,089	—	0,044	0,133
Hamburg, Winter	—	—	0,051	0,051
	—	0,056	0,040	0,096[1])
	—	0,036	0,018	0,054
Paris	—	—	0,035	0,035
	—	0,062	0,031	0,093
	—	0,049	0,030	0,079
Shanghai	—	—	0,047	0,047
	—	0,0406	0,0206	0,061
Hamburg, Herbst	—	—	0,024	0,024
	—	0,050	0,041	0,091
	—	0,020	0,037	0,056

Als Analogon möchte ich auf das Wachsthum der Tuberkelbacillen auf Glycerinbouillon hinweisen, welche nur im directen Contacte mit der Luft wachsen, untergesunken, selbst wenn man die Bacterienbouillon mit Luft schüttelt, kein Wachsthum zeigen.

Auch glaubte ich, bei den Cholerabacillen häufig besseres Wachsthum dadurch zu erzielen, dass ich ein Stückchen Bacterienhaut auf der neu zu impfenden Bouillon zum Schwimmen brachte.

Als weitere Stütze für die directe Gasathmung der Cholerabacillen möchte ich auch die Beobachtung anführen, dass die

1) Spur. Häutchenbildung.

nicht häutchenbildenden Choleraarten allem Anschein nach mehr Ammoniak bildeten als die alte Laboratoriumscholera. Es findet also, je nachdem ein directer Contact mit der Luft stattfindet oder nicht, ein ganz verschiedenartiger Gaswechsel statt. Im Uebrigen sind die Versuche hierüber noch nicht abgeschlossen. Es können hier nur genaue Respirationsversuche, die zur Zeit im hiesigen Institute im Gange sind, Aufschluss geben.

Weit besseres Wachsthum als auf normaler, schwach alkalischer Bouillon erhielt ich auf solcher, welcher nach dem Vorgange von Dahmen[1]) 1 % krystallisirte Soda zugesetzt war. Auf diesem stark alkalischen Nährboden fand gutes Wachsthum und üppige Häutchenbildung statt, so dass eine ausreichende Ernte zu erzielen war. Dabei war der Ernteertrag, wie aus der Stickstoffproduction hervorgeht, bei den verschiedenen Kommabacillensorten ein fast genau gleichmässiger. Tab. III enthält die Stickstoffproduction von 3 verschiedenen Kommabacillenarten,

Tabelle III.

Stickstoffproduction auf 1% Sodabouillon.

Cholera	Stickstoff auf 210 ccm Bouillon		
	im Häutchen	durch Eisenfällung	Summe
alt	0,093	0,049	0,142
Hamburg Winter	0,091	0,048	0,139
Shanghai	0,093	0,052	0,144

gewachsen auf ein und derselben Bouillon. Wie der Augenschein lehrt, zeigen die Zahlen grosse Uebereinstimmung. Die Schwankungen betragen nicht mehr wie 2—3 %. Ich hielt es deshalb nicht für nöthig, weitere ausgedehntere Versuche anzustellen, namentlich da ich weiter unten noch weiteres Beweismaterial beizubringen im Stande sein werde. Im Uebrigen ist es wohl auch ein nicht erst durch besondere Experimente zu beweisendes Axiom, dass ein und derselbe Bacillus, bei gleicher Aussaat und genau gleichmässigen Wachsthumsbedingungen auch

1) Centralblatt f. Bacteriologie, Bd. XII, Nr. 18.

das Nährmaterial in derselben Weise verwerthet, d. h. den gleichen Ernteertrag liefert. Es verhielten sich demnach die Kommabacillen verschiedener Provenienz so, als ob nur eine einzige Art vorhanden wäre.

In Uebereinstimmung mit dem gleichen Ernteertrag ergaben für alle 5 Choleraarten die Analysen eine fast identische Zusammensetzung. Es war nicht nothwendig, in dem einzelnen Falle Controlanalysen anzustellen. Die Analyse der einen Choleraart stützt die der anderen. Wie sich aus Tabelle IV ergibt, enthalten die von mir zur Untersuchung gewählten Kommabacillen rund 65 % Eiweiss und 31 % Asche in der Trockensubstanz.

Tabelle IV.

Cholera verschiedener Provenienz auf 1% Sodabouillon.

	Stickstoff %	Eiweiss %	Asche %	Summe %	Deficit
Cholera alt	10,42	65,12	31,55	96,67	3,33
Cholera Hamburg, Winter	11,08	69,25	25,87	95,12	4,88
Cholera Paris	9,96	62,25	32,80	95,05	4,95
Cholera Shanghai	10,28	64,25	33,87	98,12	1,88
Cholera Hamburg, Herbst	10,23	63,94	29,81	93,75	6,25
	10,39	64,96	30,78	95,74	4,26

Die Kommabacillen, auf 1 % Sodabouillon gewachsen, bestehen im wesentlichen also aus weiter nichts als aus Asche und reinem Eiweiss. Dass die berechnete »Stickstoffsubstanz« thatsächlich als Eiweiss zu betrachten ist, lehrt ein Blick auf Tab. V. Die mittlere elementare Zusammensetzung der Cholerabacillen stimmt vollständig mit den Analysen, die von den Autoren für reines Eiweiss gegeben werden, überein. Auf geringe Schwankungen im Kohlenstoffgehalte der einzelnen Kommabacillen möchte ich hierbei kein Gewicht legen. Dieselben sind wahrscheinlich bedingt durch die verschiedenartige Natur der Extractivstoffe und sonstigen Substanzen, welche die Bacillen, wenn auch nur spurenweis enthalten.

Tabelle V.

Cholerabacillen auf 1% Sodabouillon, elementare Zusammensetzung.

Cholera	C %	N %	H %
alt	51,04	15,23	6,16
Hamburg, Winter	46,70	14,95	6,75
Paris	51,97	14,82	8,44
Shanghai	46,92	15,54	7,70
Hamburg, Herbst	47,78	14,58	—
	48,88	15,00	7,26

Analytische Belege zu Tab. IV u. V.

1. Cholera alt:

0,1825 g (0,1249 g aschefrei) Trockensubstanz = 0,0637 g C = 0,0190 g N; 0,1721 = 0,0543 g Asche.

2. Cholera Hamburg, Winter:

0,2206 g (0,1635 g aschefrei) Trockensubstanz = 0,0764 g C = 0,0245 g N; 0,1365 g = 0,0356 g Asche, 0,1768 g = 0,0455 g Asche.

3. Cholera Paris:

0,2058 g (0,1383 g aschefrei) Trockensubstanz = 0,0719 g C = 0,0205 g N; 0,1640 g = 0,0538 g Asche.

4. Cholera Shanghai:

0,1634 g (0,1081 g aschefrei) Trockensubstanz = 0,0507 g C = 0,0168 g N; 0,2076 g = 0,0700 g Asche, 0,1954 g = 0,0676 g Asche.

5. Cholera Hamburg, Herbst:

0,1473 g (0,1034 g aschefrei) Trockensubstanz = 0,0494 g C = 0,0151 g N; 0,1020 g = 0,0304 g Asche.

Wenn wir diese soeben erhaltene Zusammensetzung der Choleravibrionen vergleichen mit dem, was von anderen Bacterien bislang bestimmt ist, und was sich während der annähernd gleichen Beschaffenheit des Nährmaterials und wegen der gleichen Wachsthumsbedingungen zum Vergleiche heranziehen lässt, so müssen wir, wie ein Blick auf Tab. Va lehrt, sagen, dass die Kommabacillen sich rücksichtlich ihrer Zusammensetzung mit keiner andern bisher analysirten Bacterienart vergleichen lassen, dass sie eine Ausnahmestellung einnehmen.

Zusammensetzung der verschiedenen Bacterienarten.

Bacterien-species	Stickstoffsubstanz			Aether-Alkohol-extract			Asche		
	1% Pepton-agar	5% Pepton-agar	1% Soda-bouill.	1% Pepton-agar	5% Pepton-agar	1% Soda-bouill.	1% Pepton-agar	5% Pepton-agar	1% Soda-bouill.
Pfeiffer's Kapselbact.[1])	66,6	70,0	—	17,7	14,6	—	12,56	9,10	—
Nr. 28[1]) . .	73,1	79,6	—	16,9	17,8	—	11,42	7,79	—
Pneumonie-bacterien .	71,7	79,8	—	10,3	11,3	—	13,94	10,36	—
Rhinosklerom-bacterien .	68,4	76,2	—	11,1	9,1	—	13,45	9,33	—
Vibrio cholerae asiaticae . .	—	—	64,96	—	—	—	—	—	30,78

Ein ähnlich hoher Aschegehalt von 31% ist bislang von keiner Bacterienart bekannt;[1]) er übertrifft den maximalen Aschegehalt der bereits untersuchten Bacterienarten um mehr als das Doppelte. Rücksichtlich des hohen Eiweissgehaltes stimmen die Choleravibrionen mit den andern Bacterien der Tabelle Va nahezu überein, wenngleich der Eiweissgehalt der betreffenden Bacterien durchgehends ein etwas höherer ist, als der Kommabacillen. Dahingegen treten bei den andern Bacterien wieder die Extractivstoffe mehr in den Vordergrund, während sie bei den Kommabacillen nur 2—3% höchstens ausmachen mögen.

Um ein möglichst vollständiges Bild der Zusammensetzung der Choleravibrionen, wenigstens bei Wachsthum auf Sodabouillon zu geben, habe ich in zwei Versuchsreihen mit je 3 l Sodabouillon den Wassergehalt der Bacterien zu ermitteln gesucht. Obwohl der Natur der Sache nach derartigen Bestimmungen, selbst beim vorsichtigsten Abgiessen von dem Cholerahäutchen und dem sorgfältigsten Absaugen der Bouillonreste mit Filtrirpapier, immer gewisse Fehler anhaften müssen, glaube ich doch den erhaltenen Zahlen, namentlich wegen ihrer fast absoluten Uebereinstimmung

1) Allerdings sind bisher auch noch keine anderen Bacterien auf einem so aschereichen Substrat gezüchtet worden, wie die Sodabouillon, welche 25 bis 27% Asche in der Trockensubstanz enthielt.

im zweiten Versuche, eine gewisse Zuverlässigkeit beimessen zu dürfen. Ich erhielt bei:

	I	II	
Cholera alt	10,00	12,67 %	Trockensubstanz
» Hamburg Winter .	12,88	12,03	»
» Paris	10,20	12,67	»
» Shanghai	12,93	12,69	»
» Hamburg Herbst .	9,84	11,33	»
	11,17	12,28	Trockensubstanz

Also im Mittel aus allen Versuchen **11,72%** Trockensubstanz oder **88,28%** Wasser. Wir erhalten somit als mittlere Zusammensetzung der Choleravibrionen auf Sodabouillon

88,3% Wasser,
7,6% Eiweiss,
3,6% Asche.

Versuche, auf Traubenzuckerbouillon in dem Zeitraume von 3 Tagen ein hinreichend kräftiges Wachsthum zu erzielen, schlugen fehl. Wegen der Säureempfindlichkeit der Choleravibrionen war, selbst bei Kalkzusatz, das Wachsthum nicht hinreichend kräftig genug, um eine üppige Ernte zu erzielen.

Hingegen war auf dem von Uschinsky angegebenen eiweissfreien Nährmaterial (s. o.), wenn das Wachsthum d. h. die Häutchenbildung, auch kein sehr kräftiges war, doch immerhin so viel Material zu erhalten, dass es zu einer Stickstoff-, Kohlenstoff- und Aschebestimmung ausreichte. Man mag sich wundern, dass ich derartige unvollständige Resultate mittheile. Es liegt dies aber in der Natur der Sache. Sollte nachgewiesen werden, dass Kommabacillen verschiedener Provenienz sich voneinander in der Zusammensetzung derart unterschieden, dass man ein mehr oder minder saprophytisches Wachsthum annehmen musste, so war zu derartigen Versuchen ein Nährmaterial auszuwählen, das ihren Ansprüchen nicht allzusehr zusagte, dessen Verwerthung und Ausnutzung ihnen gewisse Schwierigkeiten bereitete.

Ein solches weniger gut assimilirbares, zum Aufbau des Bacterienzellleibes nicht sehr geeignetes Nährmaterial brachte selbstredend einen geringen Ernteertrag mit sich. Im Grossen und Ganzen ungünstiger Nährboden und üppige Ernte sind nicht zu vereinende Widersprüche. Dann war zu beachten, dass jedenfalls, wenn sich Differenzen in der Assimilation der Nährsubstanzen seitens der verschiedenen Kommabacillen zeigten, es sich doch nur um vorübergehende Eigenschaften handeln konnte, dass mit der Zeit jedenfalls eine Angewöhnung der Kommabacillen an das Nährmaterial zu erwarten war. Es mussten sich also etwa auftretende Differenzen bei zu langer Ausdehnung der Materialgewinnung verwischen. Es ist dies auch der Grund, warum ich auf eine Wiederholung des Versuches verzichtete. Bot ich den Kommabacillen in 500 ccm Nährlösung 0,852 g N, so erhielt ich nach 3 Tagen manchmal durch Kochen und Ansäuern, d. h. durch Ausfällen der gesammten Bacterienmenge nur 15—20 mg N, im Häutchen selbst also jedenfalls noch weniger Stickstoff als Ernteertrag. Es hätte also eine Wiederholung des Versuches, namentlich da gerade bei der am meisten interessirenden Hamburger Cholera die Häutchenbildung mitunter ausblieb, unvermeidliche Luftinfectionen auch viel Nährmaterial verdarben, sich mindestens auf ein halbes Jahr erstreckt. Während der Zeit konnten die Kommabacillen ihre Eigenschaften geändert und das beabsichtigte Versuchsresultat illusorisch gemacht haben. Dann war zu hoffen, dass, wie dies auch bei der Cultivirung der Kommabacillen auf Sodabouillon der Fall gewesen war, die Analyse der einen Kommaform die der andern stützen würde In der That war dies auch der Fall (s. u.) Die am längsten auf künstlichem Nährmaterial gezüchteten Kommaformen, die alte Laboratoriumscholera und die aus Sanghai, zeigen ebenso wie die aus den beiden Hamburger Epidemien befriedigende Uebereinstimmung, nur die Pariser Vibrionen zeigen ein vollkommen abweichendes Verhalten.

Im Uebrigen waren, wenn auch stellenweise nur wenig Material zur Untersuchung verwendet wurde, die Ausschläge doch derart, dass die unvermeidlichen Analysenfehler nicht von Be-

lang waren. Sie erreichten in einem einzigen Falle die Höhe von 4% des Gesammtresultates. Die Differenzen zwischen den einzelnen Choleraarten betragen aber 25—30%.

Betrachten wir nun die Resultate der Analysen, wie sie durch Tabelle VI und VII vorgeführt wurden, so erhalten wir durch den blossen Vergleich des Asche- und Stickstoffgehaltes ganz interessante und zum Theil unerwartete Resultate. Die Kommabacillen enthalten bei Wachsthum auf der Uschinskylösung jedenfalls ausser Eiweiss und Asche, welche beide Substanzen im Gegensatz zu dem Wachsthum auf Sodabouillon hier sehr in den Hintergrund treten, noch einen hohen Prozentsatz (bis zu 50%) andersartiger Körper. Sie sind nicht im Stande, aus dem milchsauren Ammoniak und dem Asparagin in so reichlicher Menge Eiweiss zu bilden, wie dies bei dem Pepton-Albumosegemenge der Sodabouillon möglich war. Dass die genannten Substanzen in nicht hinreichender Menge vorhanden gewesen, wird dadurch widerlegt, dass die Stickstoffausnutzung häufig nur 2—3% betrug.

Tabelle VI.

Cholera verschiedener Provenienz auf Uschinskylösung.

Cholera	Stickstoff %	Eiweiss %	Asche %	Summe %
alt	7,70	48,13	7,14	55,27
Hamburg, Winter	5,72	35,75	13,70	49,45
Paris	9,70	60,63	9,37	70,00
Shanghai	7,60	47,50	11,64	59,14
Hamburg, Herbst	5,51	34,37	14,74	49,11

Tabelle VII.

Cholerabacillen auf Uschinskylösung, elementare Zusammensetzung.

Cholera	C %	N %
alt	45,33	8,24
Hamburg, Winter	45,94	6,64
Paris	48,14	9,70
Shanghai	43,32	8,60
Hamburg, Herbst	40,40	6,46

Analytische Belege zu Tab. VI u. VII.

1. Cholera alt:

0,2156 g (0,2002 g aschefrei) Trockensubstanz = 0,0908 g C = 0,0167 g N; 0,1358 g = 0,0097 g Asche.

2. Cholera Hamburg, Winter:

0,0774 g (0,0667 g aschefrei) Trockensubstanz = 0,0306 g C = 0,0044 g N; 0,0818 g = 0,0112 g Asche.

3. Cholera Paris:

0,1306 g (0,1184 g aschefrei) Trockensubstanz = 0,0570 g C = 0,0127 g N; 0,1793 g = 0,0168 g Asche.

4. Cholera Shanghai:

0,1602 g (0,1416 g aschefrei) Trockensubstanz = 0,0613 g C = 0,0122 g N; 0,0928 g = 0,0108 g Asche.

5. Cholera Hamburg, Herbst:

0,0960 g (0,0819 g aschefrei) Trockensubstanz = 0,0331 g C = 0,0053 g N; 0,0665 g = 0,0098 g Asche

Nebenbei ergibt sich aber noch die nicht uninteressante Thatsache, dass die Choleraarten verschiedener Provenienz sich verschieden verhalten mit Rücksicht auf den im Nährmaterial vorhandenen Stickstoff. Am besten rücksichtlich der Bildung von Bacterieneiweiss vermag die Pariser Cholera den Stickstoff zu verwerthen. Die alte Laboratoriumscholera und die von Shangai verhalten sich nahezu gleich und stehen ungefähr in der Mitte. Am schlechtesten nutzen den Stickstoff des Nährmaterials aus die Choleraarten aus den beiden Hamburger Epidemien, welche untereinander auch wieder gute Uebereinstimmung zeigen. Auch in dem Aschegehalte zeigen sich gewisse Differenzen. Jedenfalls sind die beiden Hamburger Choleraarten die aschereichsten. Doch möchte ich auf kleinere Differenzen kein allzu grosses Gewicht legen, da mir hinreichendes Material zu ausreichenden Bestimmungen fehlte.

Während sich somit die Kommabacillen verschiedener Provenienz auf günstigem Nährmaterial in ihrer Zusammensetzung vollständig gleich verhalten, treten auf minder günstigem Nährmaterial deutliche Differenzen hervor. Es hat den Anschein, dass Kommabacillen, die erst seit kurzer Zeit aus dem menschlichen Körper isolirt wurden, weniger im Stande sind, ihr Eiweiss aus schlecht assimilirbaren Ammoniaksalzen und Ammoniakderivaten zu bilden, als die bereits länger auf künstlichem Nährmaterial fortgezüchteten. Den

ersteren könnte demnach eine geringere Tendenz zum saprophytischen Wachsthum zugesprochen werden als letzteren. Allerdings macht die Pariser Cholera eine Ausnahme.[1])

Im Uebrigen möchte ich mich ausdrücklich verwahren, aus den vorliegenden Differenzen in der Zusammensetzung weitgehende Schlüsse zu ziehen, weil die Analysen nicht vollständig sind und wegen der geringen Mengen von Material, das analysirt wurde, an einer gewissen Unsicherheit leiden.

Diese beiden Ergebnisse, namentlich das erstere, dass die Kommabacillen sowohl was ihren Eiweissgehalt, als was ihren Aschengehalt betrifft, ein so ausgesprochenes Vermögen zeigen, sich dem Nährmaterial zu adaptiren, war ein so auffallendes, dass ich mich nach weiteren Stützen namentlich für das erstere umsah. Den Versuch am besten in noch ausgedehnteren Maassstabe zu wiederholen, ging aus den eben erwähnten Gründen nicht wohl. War doch nach Beendigung dieser ersten Analysen bereits über 1 Jahr verflossen, seit dem die Hamburger Wintercholera aus menschlichem Darminhalte isolirt worden war.

Ich verfuhr daher so, dass ich in je ½ l gut gewachsener Culturen auf Uschinskylösung durch Kochen und Ansäuern mit verdünnter Essigsäure die Bacterien ausfällte und abfiltrirte.[2]) In dem abfiltrirten und mit Alkohol gewaschenen Eiweissbacteriencoagulum bestimmte ich den Stickstoffgehalt. Enthielt das durch diese Eiweissmethode gewonnene Bacteriencoagulum ausser Eiweiss und Asche noch andere Stoffe, so war damit auch der sichere Beweis geliefert, dass die unversehrten Bacterien noch im vermehrten Maasse diese Stoffe einschliessen. War es doch

1) Der Vollständigkeit halber, wiewohl ich hierauf keinen Werth lege, habe ich nach Abschluss der Untersuchungen den Virulenzgrad der verschiedenen Cholerasorten bei Meerschweinchen durch intraperitoneale Injection geprüft. Der typische Erkrankungsprocess kam bei keinem einzigen Thiere zur Beobachtung. Die beiden Hamburger Cholerasorten und die aus Paris wirkten in der Dosis, ²⁄₁₀ bis ½ einer 20stündigen schrägerstarrten Agarcultur injicirt, toxisch. Die Thiere starben nach 3 bis 4 Tagen ohne Bacterienbefund im Bauchfell. Cholera alt und die von Shanghai waren ganz unschädlich.

2) Für die beiden Hamburger Choleraarten wiederholte ich ausserdem den Versuch noch einmal mit je 10 l Uschinskylösung und einer Ausbeute von ca. 600 und 700 mg Trockensubstanz.

kaum anders zu erwarten, als dass beim Kochen der Bacterien, wie beim Kochen von Fleisch, extractive und andersartige Stoffe, namentlich Salze, durch die Gerinnung des Eiweisses ausgepresst werden und in Lösung gehen, dass somit die Eiweissstoffe concentrirter werden. Es zeigte sich nun in der That, dass alle 5 Choleraarten, selbst wenn ich den maximalen Aschegehalt der unversehrten Bacterienmasse, der jedenfalls zu hoch gegriffen war, in Anrechnung brachte, doch ausser Eiweiss noch einen beträchtlichen Procentsatz fremdartiger Stoffe enthielten.

Es steht somit ausser allem Zweifel, dass die Kommabacillen, wie die andern von mir untersuchten Bacterien ein ganz ausgesprochenes Vermögen besitzen, sich dem Nährmaterial, worauf sie gewachsen, in ihrer Zusammensetzung zu adoptiren. Giebt man ihnen leicht assimilirbares lösliches Eiweiss, dann wird auch der Bacterienzellleib reich an Eiweiss, gibt man ihnen schwerer aufnehmbare Ammoniaksalze und Ammoniakderivate, dann treten die Eiweissstoffe in der Zelle in den Hintergrund. Wachsen die Kommabacillen auf Nährboden, der reich ist an Satzen (die Sodabouillon enthielt 25--26% Asche in der Trockensubstanz, die Uschinskylösung nur 11%), dann nehmen sie auch reichlich Mineralsubstanzen aus der Nährlösung auf, nimmt der Aschegehalt der Nährlösung ab, dann verarmt auch die Bacterienzelle an Aschesubstanzen.

Endlich habe ich noch eine Reihe von Versuchen darüber angestellt, wie die Ausnutzung des Stickstoffes bei dem Wachsthum auf Sodabouillon erfolgt, und welchen Einfluss die gemehrte oder geminderte Sauerstoffzufuhr auf diese Vorgänge hat. Ich verfuhr dabei so, dass ich die Bacterien auf je 90 ccm Sodabouillon theils in Petri'schen Schalen mit möglichst grosser Oberfläche theils in Reagensgläsern mit möglichst geringer Oberfläche — dieselben verhielten sich ungefähr wie 50 : 1 — züchtete. Nachdem in 3 Tagen kräftiges Wachsthum erfolgt war, fällte ich die Bacterien mit essigsaurem Eisen und bestimmte im Niederschlag ebenso den Stickstoff wie im Filtrate. Der Stickstoffgehalt der Nährbouillon war bekannt. Stickstoff im Niederschlag und Stickstoff im Filtrate musste gleich sein dem Stickstoffgehalte

der Originalbouillon. Ein auftretendes Deficit war bei den Reagensglasversuchen ganz zu beziehen auf gasförmige Stickstoffverbindungen und in erster Linie auf Ammoniak; bei den Plattenversuchen war insofern ein gewisses Deficit zu erwarten, weil beim Ausgiessen der Bouillon aus den Reagensgläsern in die Platten ein geringer Verlust von Bouillon unvermeidlich war. Tab. VIII enthält die Uebersicht über 2 derartige Versuchsreihen.

Tabelle VIII.

Stickstoffausnutzungsversuch bei Cholerabacterien auf 90 ccm Sodabouillon mit 0,154 g N.

	Alt	Hamburg, Winter	Shanghai	Paris	Hamburg, Herbst	Mittel
Platte { Niederschlag	0,025	0,030	0,033	0,038	0,027	
Platte { Filtrat	0,112	0,115	0 104	0.105	0,112	0,154
	0,137	0,145	0,138	0,143	0,139	0,140
						0,014
Reagensglas { Niederschlag	0,033	0,035	0,0274	0,035	0,035	
Reagensglas { Filtrat	0,108	0,103	0,1200	0,117	0,120	0,154
	0,141	0,139	0,147	0,152	0,154	0,146
						0,008
			90 ccm = 0,173 g N.			
Platte { Niederschlag	0,021	0,027	0,024	0,021	0,026	
Platte { Filtrat	0,131	0,128	0,132	0,138	0.134	0,173
	0,151	0,156	0,156	0,159	0,160	0,156
						0,017
Reagensglas { Niederschlag	0,019	0,022	0,019	0,016	0,022	
Reagensglas { Filtrat	0,144	0,126	0,147	0,150	0,142	0,173
	0,163	0,148	0,167	0,167	0,167	0,164
						0,009

Es zeigt sich, dass in einer Anzahl von Versuchen die Bildung von gasförmigem Stickstoff (Ammoniak) verschwindend klein, jedenfalls nicht grösser als die unvermeidlichen Versuchsfehler, oder sogar gleich Null ist, d. h. also, dass aller N des Nährmateriales als Eiweissstickstoff in den Bacterien sich findet. Die Cholerasorten der verschiedenen Provenienz verhalten sich nahezu gleichmässig, nur die Vibrionen der Hamburger Winterepidemie zeichnen sich in beiden Versuchsreihen

durch starke Bildung von gasförmigen Stickstoffverbindungen aus. Ob es sich um Zufälligkeiten handelt, vermag ich nicht zu entscheiden. Die gemehrte oder geminderte Zufuhr von Sauerstoff ist innerhalb der von mir gewählten Grenzen ohne Belang.

Die Bacterienernte selbst ist auch hier wieder, wie die Stickstoffmenge im Niederschlag durch essigsaures Eisen anzeigt, eine recht gleichmässige. — Ein weiterer Beweis für die von mir eingangs der Arbeit aufgestellte Behauptung.

Fassen wir zum Schlusse noch einmal die Resultate unserer Untersuchung kurz zusammen, da ergibt sich etwa Folgendes:

1. Es existirt bei den Bacterien eine directe Gasatmung; der directe Contact mit dem atmosphärischen Sauerstoff befähigt die Cholerabacillen, den Nährboden besser auszunutzen, als wenn selbst bei reichlichster Luftzufuhr kein solcher Contact stattfindet.

2. Die Zusammensetzung der Cholerasorten verschiedener Provenienz auf Sodabouillon ist eine nahezu gleichmässige. Die Trockensubstanz der Kommabacillen enthält im Mittel 65% Eiweiss und 31% Asche.

3. Ganz anders verhalten sich die Kommabacillen auf eiweissfreier Uschinskylösung. Sie enthalten hier in der Trockensubstanz weit weniger Eiweiss und Asche und zeigen eine voneinander deutlich verschiedene Zusammensetzung.

4. Auf gutem Nährboden verhalten sich die Kommabacillen rücksichtlich ihrer Zusammensetzung fast völlig gleich; auf weniger günstigem eiweissfreien Nährboden treten Differenzen auf, und zwar können die am unmittelbarsten aus menschlichen Dejectionen gezüchteten Kommabacillen die geringste Tendenz zu saprophytischem Wachsthum zeigen.

5. Bei dem Wachsthum auf Sodabouillon kommt fast alles von den Bacterien in Angriff genommene Stickstoff als Eiweissstickstoff. Die Sauerstoffzufuhr ist dabei innerhalb gewisser Grenzen ohne Belang.

Die Resultate der vorliegenden Arbeit hatte ich im Juli dieses Jahres in einem Vortrage in der medicinischen Section des naturhistorischen Vereins zu Heidelberg bekannt gegeben. Eine kurze Inhaltsangabe erschien in der Münchener medicinischen Wochenschrift Nr. 34 vom 21. VIII. Während des Druckes der Arbeit erhielt ich durch ein Referat in der hygienischen Rundschau vom 15. September Kenntnis von der Arbeit von de Giaca und Lenti.[1]) Die Verfasser untersuchten den Stickstoffgehalt, nicht die gesammte Zusammensetzung der Bacterien, von Agarculturen mit Rücksicht auf die verschiedene Virulenz gegenüber Meerschweinchen, und die verschiedene Provenienz der einzelnen Cholerasorten. Leider muss ich es mir versagen, auf die von den meinigen zum Theil scheinbar abweichenden, thatsächlich nicht unmittelbar vergleichbaren und von anderen Gesichtspunkten ausgehenden Resultaten der Verfasser näher einzugehen. Es hätte dazu einer umfangreichen experimentellen Grundlage bedurft, die ich in der kurzen Zeit nicht herstellen konnte.

1) Annali dell' instituta d'igiene sperimentale della R. Universita di Roma. Vol. III (nuova serie), p. 585, Roma 1893.

Beitrag zum Studium der experimentellen malarischen Infection am Menschen und an Thieren.

Von

Prof. Dr. **Eugenio Di Mattei.**

(Aus dem hygienischen Institut der kgl. Universität zu Catania.)

Erster Theil.

Ueber experimentelle Malaria-Infection am Menschen.

Die Frage nach der Aetiologie der Malaria, ist, seit Laveran bis auf den heutigen Tag, Gegenstand der mannigfaltigsten Untersuchungen von Seiten zahlreicher italienischer und fremdländischer Forscher gewesen: die Resultate der Arbeiten stimmten aber, um die Wahrheit zu sagen, nicht immer überein.

Bei der Art der vorliegenden Arbeit würde ich in fremde Rechte eingreifen, wollte ich in eine Discussion der einzelnen Beobachtungen der verschiedenen Autoren eintreten, soweit solche dem höchst wichtigen Studium der morphologischen Seite und dem Entwickelungsgang der Parasiten gewidmet sind; aber andererseits muss ich bei der Beschaffenheit der vorliegenden Untersuchungen die ersten und glücklichen Beobachtungen Laveran's erwähnen und die darauf folgenden sorgfältigeren, strengeren und herrlichen Forschungen, welche von Marchiafava, Celli und Guarnieri gemacht wurden, die ja so ausserordentlich viel dazu beitrugen, die Aetiologie dieser Infection durch die Entdeckung höchst wichtiger diagnostischer Formen zu klären, und ich muss hier betonen, dass erst zeitlich nach diesen Versuchen

die Malariafrage, die bis dahin noch immer nicht ganz geklärt war, plötzlich ganz bedeutend an Klarheit gewann und dann mit neuen Kriterien und auf einer neuen Basis zu neuem Ziele studirt wurde, auf Grund der bahnbrechenden Beobachtungen Golgi's und der späteren ebenfalls wichtigen Arbeiten, welche von Grassi und Feletti, von Canalis und allen den andern scharfsichtigen, denselben Weg befolgenden Forschern gemacht wurden.

Der Grundsatz, der zuerst von Golgi aufgestellt wurde, dass nämlich den einzelnen klinischen, wohl von einander getrennten Erscheinungen von Malaria auch verschiedene Malaria-Parasiten mit eigenartigem Entwickelungsgang entsprechen, blieb bis auf den heutigen Tag unerschüttert und wurde von allen unparteiischen Forschern nur bestätigt.

Die experimentellen Untersuchungen mussten schliesslich die wahre und rationellste Controle dieser Beobachtungen geben, aber die zeitlich ersten derselben konnten die gewünschte Klarheit nicht bringen, da sie in einer Zeit gemacht wurden, die zwar nicht fern liegt, in der man jedoch noch nicht völlig klare und zuverlässige Begriffe von der Aetiologie dieser Infection besass.

Man hat allerdings — ich will hier nicht auf die sehr zweifelhaften Erfahrungen Dochmann's[1]) eingehen, die dann von Leoni[2]) wiederholt wurden — mit den ersten Forschungen

1) Dochmann zu Petersburg impfte mit subcutanen Injectionen den serösen Inhalt des Lippenherpes eines von Quartana Befallenen einem gesunden Menschen ein, und das Versuchsindividuum wurde wenige Stunden nach der Injection von Fieber gepackt, das ebenfalls den quartanen Charakter zeigte. Er impfte darauf den serösen Herpes-Inhalt eines an quotidianem Fieber Leidenden vier gesunden Individuen ein und löste in zwei Fällen ein positives Resultat, eine wahre Febris intermittens aus; in einem dritten Fall erzielte er ein einfaches Missbefinden und in dem vierten Falle traten keinerlei krankhafte Erscheinungen auf. — (»Zur Lehre von der Febris intermittens«, Vorl. Mitt. Centralbl. für die Medic. Wissenschaften 1880, und Referat in Virchow-Hirsch, Jahresbericht 1880, II).

2) Gazzetta medica di Roma, December 1881. Leoni zu Rom hat die Versuche Dochmann's wiederholt, indem er den flüssigen Inhalt der Herpesbläschen, welche sich in grosser Anzahl auf dem Kinn und den Lippen eines an Febris intermittens Leidenden zeigten, unter die Haut zweier junger

Gerhardt's[1]) einen grossen Schritt in der experimentellen Frage vorwärts gethan: Gerhardt impfte Blut eines an Febris quotidiana Leidenden unter die Haut gesunder Individuen und konnte den Erfolg verzeichnen, dass er in zwei von fünf Fällen Anfälle von Malariafieber hervorrief, das dann mit Chinin geheilt wurde: in einem Falle erhielt er nämlich nach einem Incubationsstadium von 7 Tagen ein zunächst unregelmässiges Fieber und dann Intermittens quotidiana, in dem andern Falle nach 12 Tagen Anfälle von Malaria quotidiana.

Später hatte man dann noch hinsichtlich der Zuverlässigkeit bedeutend mehr erreicht durch die Versuche, welche nach den Rathschlägen Marchiafava's und Celli's und unter deren Leitung von dem Assistenten Mariotti und Ciarocchi[2]) gemacht wurden: diese impften zunächst mit subcutanen Injectionen Malaria-Blut ein, diese Impfungen immer für negativ ansehend, und konnten dann mit Venen-Injectionen in vier von vier Fällen Malaria-Infection auslösen. — Aber aus jenen und aus diesen Experimenten konnte man keinen Schluss ziehen, es sei denn, dass man die immerhin wichtige Thatsache von der Transmissionsfähigkeit der Malaria festlegte: da nämlich die Venen-Injectionen an denselben Individuen wiederholt angewandt wurden und manchmal bei kurzem

---

Bauern einführte. Bei dem einen zeigten sich an der Injectionsstelle Bläschen, welche den an dem Kranken beobachteten ähnlich waren; der Ausbruch derselben wurde von allgemeinem Missbefinden begleitet, ohne dass jedoch das Auftreten eines wirklichen Fieberanfalles zu verzeichnen gewesen wäre. Im andern Falle zeigte sich am Ende des zweiten Tages Röthung an der Injectionsstelle und dann erfolgte ein Fieberanfall, dem Schauerempfindungen voraufgingen; das Fieber endigte mit Schweiss und dauerte 10 Stunden an. Am folgenden Tage wiederholte sich der Anfall mit grösserer Intensität; nach Anwendung von Chinin kamen keine weiteren Anfälle vor. Derselbe flüssige Stoff wurde auch auf die Art, wie man Kuhlymphe einimpft, zwei Knaben in den Arm eingeimpft; diese zeigten nach einem Incubationsstadium von 2 bis 3 Tagen jenen Zustand des Missbefindens, welcher gemeiniglich einem Fieber-Paroxysmus vorangeht. (Aus der Schrift von Cuboni und Marchiafava: »Sulla natura della malaria«).

1) »Ueber Intermittens-Impfungen.« Zeitschr. f. klin. Medicin, 1884, Bd. III.

2) »Sulla trasmissibilità dell' infezione malarica.« Lo sperimentale, fasc. 12, 1884.

Zwischenraum nach den subcutanen, so konnte mit Sicherheit von einem Incubationsstadium nicht die Rede sein, noch durfte man die Erscheinungen den Venen-Injectionen ausschliesslich zuschreiben und auch nicht einer bestimmten derselben in der zeitlichen Folge: es hätte ja alles auch die Folge der subcutanen Injectionen sein können, wie es übrigens auch mit vieler Wahrscheinlichkeit für einige der von den Autoren angeführten Fälle anzunehmen ist. — Die Einwände sind aber mit vorstehenden Auslassungen noch nicht erschöpft; denn man hatte an ein und demselben Individuum bei kurzen Intervallen Impfungen vorgenommen mit Blut, das von mehreren Malaria-Kranken mit verschiedenen Fieber-Typen genommen war. Später haben Marchiafava und Celli[1]) selbst über diese 4 oben angeführten Fälle eingehend referirt und dieselben besprochen, zudem noch ein fünftes, von ihnen selbst geleitetes Experiment, und sie zogen den Schluss, dass man nur in drei Fällen die wahre Auslösung der Malaria mit typischem Verlauf, ausschliesslich durch Venen-Injection erzeugt, annehmen dürfe.

Betonten übrigens Marchiafava und Celli, dass es schwer sei, hier von einer bestimmten Dauer der Incubation zu sprechen — in Folge der zu oft wiederholten Injectionen, die man an den Experimentsobjecten vornahm, so zeigten sie sich doch geneigt, eine Incubation von sehr kurzer Dauer anzunehmen.

Thatsächlich konnten sie in dieser so ausserordentlich wichtigen Frage ein strenges Urtheil nicht abgeben, und so standen sie an, den Erfolg der Injectionen mit Malaria-Blut als von beträchtlich langer Incubation begleitet anzusehen — immerhin verdienen auch diese Fälle Beachtung.

Das Jahr darauf theilten diese fleissigen Forscher einen weiteren Fall von experimentell erzeugter Malaria[2]) mit: in diesem Fall war die Zeit der Incubation sehr kurz (2—3 Tage); nunmehr folgerten sie als Schluss, dass die Incubationszeit überhaupt

1) »Nuove ricerche sull' infezione malarica«. Arch. p. le Scienze Med., Vol. IX, Nr. 15, 1885.

2) Marchiafava u. Celli. Studi ulteriori sull' infezione malarica. Arch. p. le Scienze Med., Vol. X, 1886.

kurz sei und bestätigten hierdurch das, was sie nach ihren ersten Versuchen bereits angenommen hatten[1]).

Aber bisher war das Ziel dieser experimentellen Unternehmungen ein eng begrenztes; man hielt hier gleichen Schritt mit den Erfahrungen, welche die Klinik und die mikroskopische Beobachtung für die Aetiologie der Malaria lieferten. — Als aber diese durch gutgeführte Beobachtungen mehr und mehr an Klarheit gewann, da erhielt die experimentelle Frage eine grosse Bedeutung, da sie die Aufgabe übernahm, den Gegenbeweis zu dem zu liefern, was die mikroskopischen Untersuchungen, auf Grund klinischer Fälle, zu beweisen trachteten: nunmehr hielt man es für nöthig, nach dem von Golgi[2]) aufgestellten Satz experimentell die gegenseitigen Beziehungen zwischen Mannigfaltigkeit und Entwickelungsgang der Malaria-Parasiten einerseits und der Verschiedenheit der Fiebertypen andererseits zu studieren.

Die ersten, auch die einzigen Versuche, welche man zur Aufgabe kannte, gehören der klinischen Schule zu Rom an, welche unter Leitung von Baccelli steht.

Gualdi und Antolisei[3]) unternahmen, um die gestellte Aufgabe zu lösen, Versuche und teilten zwei Fälle von Malaria mit, die sie auf experimentellem Wege durch Venen-Injection mit Blut eines an Intermittens quartana (?) Leidenden ausgelöst hatten. — Durch ihre Versuche wurde nun zwar hinsichtlich der Incubationsperiode etwas Klarheit gewonnen, denn sie warteten verständiger Weise längere Zeit auf das Resultat der vorgenommenen Injection; aber sie gaben doch weder über den Fieber-Typus und über den mikroskopischen Befund des Blutes des Malaria-Kranken einen genauen Aufschluss, noch schienen sie längere Zeit hindurch die beiden Versuchsobjecte beobachtet zu haben, noch haben sie schliesslich (und das wiegt am meisten)

1) l. c. Arch. p. le Scienze Med., Vol. IX, 1885.

2) Golgi, »Sull' infezione malarica.« »Sul ciclo evolutivo dei parasiti malarici nella febbre malarica terzana.« »Sulle febbri intermittenti malariche a lunghi intervalli.« Arch. p. le Scienze Med., Vol. X u. Vol. XIV.

3) »Due casi di febbre malarica sperimentale.« Bullet. dell' Acad. Med. di Roma, fasc. 6, 1888—89.

Fälle von primitiver Malaria zum Versuch benutzt. — Sie schliessen — und das wohl ein wenig voreilig — daraus, dass durch Venen-Injection ein Fieber erzeugt wurde, das 10 Tage Incubation hatte und keinen Fieber-Typus zeigte, dass der zweite Fall mit einer Incubation von 12 Tagen, aber auch ohne Erzeugung von Fieber-Typus verlief.

Wer nun aber genau die thermographische Tafel betrachtet, die der Arbeit der vorgenannten Autoren angefügt ist, den wird es verwundern, dass sich im ersten Fall das Fieber bei dem Impfling am 20. Mai mit einer Temperatur von 38,5° einstellte, dann am Nachmittag den 22. Mai eine Temperatur von 40,8° erreichte, dass am 24. ein weiterer Anfall auftrat, bei dem die Temperatur 40,5° erreichte, und dass es dann am 26. bei einem neuen und stärkeren Anfall andauerte, bei dem sich die Temperatur bis zu 41,5° erhob, dass dann am 28. ein fünfter Anfall zu verzeichnen war mit einer Temperatur von 39,8°, bis dass sich nach diesem Tage der Typus dieses Fiebers nur noch nach Behandlung mit Chinin wandelte.

Und ein ebenfalls starker Zweifel wird bei dem Leser entstehen, nach dem Befund des Blutes in dem geimpften Individuum: hier werden Formen von Amoeben beschrieben, die die Pseudopoden mit grosser Lebhaftigkeit ausstrecken und wieder einziehen, so dass der Zweifel entstehen kann, ob sie nicht etwa zugleich mit den Parasitenformen der Quartana die Amoeben der Tertiana eingeimpft haben (wie sie selbst auch später bestätigen) und dass wahrscheinlich diese letzten sich mit Uebergewicht in dem geimpften Individuum verbreitet haben, um so mehr, wenn man Gewicht auf den hervorgerufenen Fieber-Typus legen will.

Viel unbestimmter und somit noch weniger annehmbar sind auch die Nachrichten, die sich auf den zweiten Fall beziehen, und somit sind auch die erzielten Resultate viel leichter angreifbar. — Aus demselben Grunde verdient schliesslich der dritte Fall noch weniger Beachtung[1], der von denselben Autoren erwähnt, doch von ihnen nacher nicht einmal zum Beweise herangezogen

1) Gualdi u. Antolisei, l. c.

wurde, da sich der Impfling einige Tage nach der Injection aus dem Hospital entfernt hatte: in diesem Falle stellte sich in Verfolg der Injection von Blut eines an Quartana Leidenden ein quartaner Typus mit fünf Anfällen bei regulärem Intervallum ein. — Diese Experimente, die ja nach der Schlussfolgerung der Autoren eher gegen als für den Gedanken der diversen Arten von Malaria-Parasiten und entsprechendem Fiebertypus sprachen, lichteten mithin das Problem sehr wenig.

Später verzeichneten Antolisei und Angelini[1]) zwei weitere Fälle von experimentell erzeugter Malaria, und da bei diesen Fällen grössere Vorsichtsmaassregeln angewandt wurden, so mochten auch die Resultate besser und brauchbarer sein. — Man erhielt nämlich in beiden Versuchsobjecten die mit Blut eines an tertianer Malaria Leidenden geimpft waren, eine Incubation von 11 Tagen, man erhielt entsprechend den eingeimpften Parasitenformen bei den Impflingen einen mikroskopischen Befund des Blutes, der identisch mit dem bei dem Patienten war, und man erhielt auch einen Fiebertypus, der an den des an Intermittens tertiana Leidenden erinnerte. — Die Autoren hingen aber fest und zäh ihren ersten Ansichten an und machten nun sich selbst die verschiedensten Einwendungen, die nicht ganz und immer angebracht waren; sie zeigten sich hinsichtlich einer den Fiebertypus betreffenden Schlussfolgerung sehr zurückhaltend, wohl aber betonten sie, dass die morphologischen Erscheinungen der eingeimpften Parasiten sie in den Stand setzten, zu belegen, dass das Haematozoon der Malaria tertiana verschieden sei von dem der quartana und dem sichelförmigen, und sie stützten so theilweise die Lehre Golgi's von der Existenz verschiedener Arten von Malaria-Parasiten, sie glaubten sich aber noch nicht dazu berechtigt, mit jeder Eigenart der Parasiten einen besonderen Fieber-Typus zu verbinden.

Die Forscher hatten aber hiermit noch nichts Vollkommenes in Folge des Zustandes des an tertianem Fieber Leidenden gewonnen: denn der Fieber-Typus war, wie die Autoren selbst durchblicken

1) »Due altri casi di febbre malarica sperimentale.« Riform. Med. Settemb. 1889.

liessen, nicht so scharf ausgeprägt, dass alle Zweifel, welche man hinsichtlich der Reinheit des Falles hegen konnte, ausgeschlossen waren.

Und während man daher einerseits ihr Schwanken und ihre Zurückhaltung wohl berechtigt finden kann, so bemerkt man andererseits eine vollständige Bekehrung schon kurze Zeit später, als einer von ihnen, nämlich Antolisei mit Gualdi[1]) die Gelegenheit hatte, Experimente mit allergrösster Strenge zu führen. — Sie fanden nämlich ein Individuum, das an primitiver, reiner Malaria quartana mit ausgeprägtestem Fiebertypus litt und in dessen Blut sie durch fleissige und fortgesetzte Beobachtungen die Formen der Parasiten der Quartana allein fanden. — Sie impften das Blut dieses Individuums einem Versuchsobject ein, das niemals bisher an Malaria gelitten hatte, und konnten unter diesen so ausserordentlich günstigen Umständen ein Fieber mit 12tägiger Incubation auslösen, das sich ganz regelmässig mit vollkommenem quartanem Typus entwickelte, sie konnten bei Prüfung des Blutes des Impflings die Entwickelung des Haematozoon der Quartana in seinem ganzen, schon bekannten, Entwickelungshergang vorfinden und verfolgen.

Es war ihnen nunmehr klar, dass der Ausgang der Experimente von der Strenge abhing, die bei dem Studium und bei der Durchführung derselben zur Anwendung kam, und dieselben Autoren theilen[2]) kurze Zeit darauf einen weiteren wichtigen Fall mit, bei welchem sie durch Venen-Injection Malaria-Blut, das sichelförmige Parasiten enthielt, einem gesunden Individuum einimpften und dann in dem Blut des Versuchsobjectes das sichelförmige Haematozoon und auch den Entwickelungsgang feststellen konnten, welcher bisher von vielen Forschern als zu dieser Art der Parasiten gehörig angesehen wurde: und sie erreichten nach 13 Tagen Incubation ein Fieber mit unregelmässigem Typus, wie es auch heute noch auf das Vorhandensein solcher Parasiten stets schliessen lässt.

1) Gualdi u. Antolisei, »Una quartana sperimentale.« Rif. Med. 89.

2) Gualdi u. Antolisei, »Inoculazione delle forme semilunari di Laveran.« Riforma Medica, Nov. 1889.

So waren die auf Experimente gestützten Schlussfolgerungen der klinischen Schule zu Rom bei diesen letzten Versuchen, die gut geführt und gut gelungen waren, sehr entscheidend; und nur eine kurze Zeit von wenigen Monaten nach den ersten Versuchen, die kein sicheres und klares Resultat ergaben, schrieb Antolisei[1]) in seiner letzten Arbeit, dass „da man die Vorsicht anwandte und Blut immer von Individuen nahm, die an primitiver Malaria-Infection litten, man die glänzendsten Resultate für die Lehre von der Existenz einer Mannigfaltigkeit der Malaria-Parasiten verzeichnen konnte; — dass nach Injection von Blut der primitiven tertiana auch ein Fieber mit Anlehnung an den tertianen Typus ausgelöst wurde und auch Parasitenformen nachgewiesen wurden, die den eingeimpften gleich waren; dafs man nach Impfung von Blut der primitiven Quartana die Auslösung der Formen des Haematozoon der Quartana verzeichnen konnte; dass man nach Injection der halbmondförmigen Formen, die von einem an primitiver Malaria-Infection Erkrankten genommen waren, ein unregelmässiges Fieber erhielt, das diesen Parasiten eigen ist, so dass man im Blut das Vorhandensein von halbmondförmigen Gebilden und deren allmähliche Entwicklung constatiren konnte, wie man es ja speciell bei den Infectionen dieser Art zu finden pflegt." — Der Schluss war also: »Impft man eine Reincultur einer Malaria-Parasitenart ein, so erhält man die Reproduction der eingeimpften Art« mit entsprechendem Fieber-Typus ohne jede Abweichung. Schliesslich begründet der Autor die Verschiedenheit zwischen den unbestimmten Resultaten der ersten Experimente und den bestimmten der späteren Versuche, indem er betont, dass der Irrthum durch die Unreinheit der gewählten Fälle verursacht wurde, da man es bei diesen mit Personen zu thun hatte, die schon andere Male an der Malaria gelitten hatten, so dass ein und dasselbe Individuum, welches an Malaria krankte, in seinem Blut verschiedene ausgewachsene Arten von Malaria-Parasiten hätte gehabt haben können oder

1) Considerazioni intorno alla classificazione dei parasiti malarici. Rif. Med., Aprile 1890. (Lavoro lasciato inedito e pubblicato dopo la morte immatura dell' Antolisei, per cura del Dr. Angelini.)

doch wenigstens Amoeben, welche sich gleich im ersten Stadium, bei den nur ganz schwachen Unterschieden leicht auswechseln konnten.

So beschränkte sich nun die Literatur der wirklich begründeten und streng bearbeiteten Fälle auf eine nur kleine Zahl, d. h. auf die zwei oder drei oben genannten Fälle. — Diese Spärlichkeit findet ihre Begründung in der Schwierigkeit, welche sich beim Suchen nach Individuen mit primitiver reiner Malaria einstellt, und durch die Abneigung, welche die Leute gemeiniglich dagegen haben, als Versuchsobjecte zu dienen. — In unsern Hospitälern wächst die Schwierigkeit, solche Experimente zu führen, ganz gewaltig. — Und andererseits können in der That zwei oder drei Fälle nicht genügen, um vollkommen von der experimentellen Seite das Bild der Parasiten-Arten in der Aetiologie der Malaria zu erklären, um so mehr, als noch Meinungsverschiedenheiten hinsichtlich der morphologischen Seite der Frage zwischen den einzelnen Forschern bestehen und auch heute noch nicht alle darin einig sind, ein- und dieselbe systematische Classification anzunehmen. —

So lag die experimentelle Frage der Malaria, als ich mit der thatkräftigen Unterstützung der Kollegen Grassi und Feletti (denen hier bestens danken zu können, mir angenehme Pflicht ist) die ersten Versuche am Menschen vorzunehmen begann: von diesen Versuchen sind bereits einige kurz veröffentlicht[1]), ich führe aber jetzt alle hier auf, auf dieselben des Weiteren eingehend, um auch meinerseits zur Klärung der ätiologischen Frage der Malaria beizutragen, zumal bei den besonderen Umständen, unter denen diese Versuche vorgenommen werden konnten. —

Die zuerst von Gerhardt behauptete Thatsache, dass Experimente von subcutaner Injection mit Malariablut positive Resultate ergaben, — eine Thatsache, die keine Bestätigung durch die ähnlichen, aber voreiligen Versuche Mariotti's und Ciarocchi's

1) Di Mattei. Contributo allo studio dell' infezione malarica sperimentale nell' uomo e negli animali. Riforma Medica. Maggio 1891.

erfahren hatte, — wurde von Calandruccio[1]) durch einige Versuche im Laboratorium Grassi's mit mehr Glück geprüft und bestätigt und erhielt später allgemeine Rechtfertigung durch Grassi und Feletti, auf Grund des Zustandes des Patienten selbst, wie wir übrigens später noch Gelegenheit haben werden, anzuführen.

Damals wollte auch ich das Experiment versuchen, um so mehr als sich mir dazu die günstigste Gelegenheit bot, und wollte zudem die Modalitäten der Versuche sichten und gegeneinander abwägen.

Die subcutanen Injectionen verlangen nicht die Cautelen, welche die Venen-Injectionen erheischen, auch erregen sie nicht in dem, der sich ihr unterzieht, jenes peinvolle Angstgefühl, welches gleichsam immer die Vornahme einer Venen-Injection bei dem Patienten erzeugt. — Es war somit leichter, mehrere subcutane Injectionen an mehreren Individuen vorzunehmen.

I. Experiment.

Impfung mit Blut der Quartana an gesunden Personen.

G. Mantese aus Roccella Jonica, Bauschlosser, 18 Jahre alt, wurde, als er in der Piana an Dammarbeiten am Flusse Simeto beschäftigt war, nach 20 tägigem Aufenthalt an Ort und Stelle von einem sehr heftigem Fieber-Anfall ergriffen, den er sich, wie er glaubte, zugezogen hatte, als er eines Tages während einer Feierstunde neben dem Flusse eingeschlafen war. Als er Tags darauf nach Catania kam, fieberte er noch, obgleich er sofort Chinin genommen hatte. Er blieb bis am Abend des vierten Tages fieberlos und während er schon glaubte, am nächsten Tage wieder in die Piana abreisen zu können, wurde er von einem Anfall gepackt, der heftiger war als der erste und der ihn zwang, das Bett zu hüten.

Die Prüfung des Blutes in den beiden Tagen der Apyrexie liess in einigen rothen Blutkörperchen einige sehr vereinzelte

---

1) Citato da Grassi u. Feletti: ›Parasiti malarici degli uccelli.‹ ›Classificazione dei parasiti malarici.‹ Bollet. Acad., fasc. XVIII, 1891.

Hämamöben erkennen, häufiger zeigten sich Körper mit vorwiegend runder Form und Pigmentkörnchen an der Peripherie; bei den folgenden Beobachtungen liess sich wahrnehmen, dass diese Körper anwuchsen auf Kosten des rothen Blutkörperchens bis zur äussersten Theilungsphase.

Die mikroskopische Prüfung, die methodisch fortgeführt wurde, liess keinen Zweifel über die Beschaffenheit des Haematozoon und über den Fiebertypus.

In den folgenden beiden Tagen der Apyrexie nahm Patient 50 ctgr. Chinin; das verhinderte jedoch nicht, dass nach zwei Tagen und zwar genau am Morgen des vierten Tages ein dritter Anfall auftrat.

Nun wurden mittels gut sterilisirter Pravaz-Spritze aus einer der oberflächlichen Venen des rechten Armes des Patienten, der noch fieberte, 10 ccm Blut entnommen, und dieses wurde subcutan am Arm vier Individuen eingeimpft, die sich aus freien Stücken zum Versuche angeboten hatten. —

Die vier Versuchsobjecte hatten niemals an Malaria gelitten, noch waren sie je in Malaria-Orten gewesen.

Die Quantität des eingeimpften Blutes war bei den einzelnen Impflingen nicht die gleiche: Dem ersten wurde ½ ccm Blut injicirt, dem zweiten 1 ccm, dem dritten und vierten 2 ccm.

Fall I: G. Petralia, Diener, 22 Jahre alt, erhielt subcutan injicirt in den rechten Vorderarm 2 ccm vom Blut des oben genannten Individuums. (14. Aug.)

Den P. hatte ich Gelegenheit, täglich im Laboratorium zu sehen. Ich machte von Zeit zu Zeit eine Prüfung des peripherischen Blutes durch Punctur des Fingers, aber immer mit negativem Resultat. Er selbst mass täglich zwei mal seine eigene Temperatur an der Achselhöhle. — P. hatte gleichsam schon die Injection vergessen, der er sich unterworfen hatte, als er am 1. September (17 Tage nach der Injection) während er sich im Laboratorium befand, von Schüttelfrost befallen wurde und dann darauf von heftigem Fieber, welches auf 40,2° stieg und 9 Stunden andauerte, dann mit reichlichem Schweissausbruch fallend. Am Tage darauf war P. vollkommen fieberfrei und kehrte, ein wenig

müde, in das Laboratorium zurück. Die Prüfung des Blutes liess endoglobulare, pigmentführende, sehr kleine Formen von sehr runder Gestalt erkennen. Den folgenden Tag dauerte die Apyrexie an, das Individuum war guten Muths, die Blutprüfung ergab einen Befund, der dem des vorhergehenden Tages fast gleich war, doch hatten die Parasitenformen an Grösse zugenommen, gleichsam das rothe Blutkörperchen einnehmend: man entdeckte ferner einige endoglobulare Formen mit Pigmentkörnchen auf dem Wege der Centralisation.

G. Petralia. Blutinjection mit Hämatozoen der Quartana.

Reaction: Quartaner Fiebertypus.

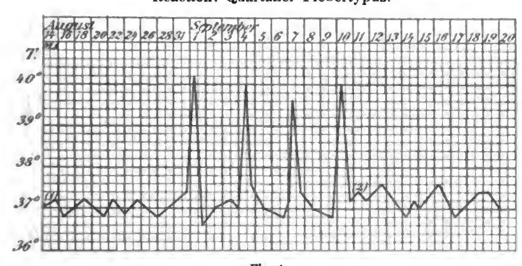


Fig. 1.

1. Blutimpfungstag. 2. Chinin.

Am 4. September gegen 11 Uhr Vormittags empfand P. Gefühl von Kälte, welches sich immer mehr steigerte, und dann wurde er von Fieber ergriffen, welches 40° erreichte. — P. äusserte, dass die Kälte erträglich sei, die Nägel waren nicht stark cyanotisch, das Fieber hatte nicht die Ermattung verursacht wie das erste Mal. Die ca. 4 Stunden nach dem Anfall vorgenommene Prüfung des Blutes, liess endoglobulare Formen erkennen, pigmentlos, in sehr geringer Anzahl — und zudem noch einige, sehr vereinzelte pigmentirte Formen.

P. glaubte, dass das Fieber von selbst wieder weichen würde, und nahm nicht Chinin. Aber nach zwei weiteren Tagen gänzlicher Apyrexie, während welcher die Prüfung des Blutes viele

Formen der Quartana gezeigt hatte, von kleineren bis zu grösseren, runde, endoglobulare und pigmentirte, wurde P. am 7. Sept. um 5 Uhr Morgens, während er noch im Bett lag, durch Kälteempfindung an den unteren Gliedern aufgeweckt und darauf von Fieber befallen. Die Temperatur stieg auf 39,5°, um dann vollständig gegen 3 Uhr Nachmittags mit Schweissausbruch zu fallen. — Die Prüfung des Blutes, welche gleichsam sofort vorgenommen wurde, liess Trennungsformen erkennen, welche nach und nach seltener wurden, bis sie bei den folgenden Prüfungen verschwanden.

Am 10. gegen 9 Uhr Morgens ein neuer sehr starker Anfall, die Temperatur stieg auf 40°, das Fieber dauerte 26 Stunden an und schwächte den Kranken sehr. — Darauf entschloss er sich, Chinin zu nehmen, um jeden neuen Anfall zu verhüten, und in der That kam das Fieber nicht wieder.

Fall II: N. Parisi, Stallbube, ist das zweite Versuchsobject; er erhielt durch subcutane Injection in dem Arm 2 ccm vom Blut der Quartana eingeimpft.

Am 25. August, nach 11 Tagen Incubation, wurde der Impfling, ein 14 jähriger Knabe, um 10 Uhr Morgens von einem leichten Fieberanfall gefasst, bei welchem die Temperatur auf 39,5° stieg und welcher den ganzen Tag und auch den Abend andauerte, mit schwachem Schweissausbruch sich legend. Die Prüfung des Blutes, die ich ca. 2 Stunden nach dem Anfall vorzunehmen Gelegenheit hatte, liess noch ziemlich zahlreiche Theilungsformen erkennen, die bei den folgenden Untersuchungen nach und nach verschwanden. Den Tag nach dem Anfall begannen andererseits sich endoglobulare pigmentirte Formen zu zeigen, kleine, regelmässige und am folgenden Tag reife Formen, grössere und unregelmässige, mit im Centrum angehäuftem Pigment.

Es lag nach der mikroskopischen Blutprüfung über die Art des Malaria-Parasiten, mit dem man es hier zu thun hatte, kein Zweifel vor: es war genau der der Malaria quartana. Und thatsächlich hatte der Kranke, Tags darauf, am 28., gegen 4 Uhr Nachmittags einen zweiten Anfall, der stärker war als der erste:

die Temperatur stieg auf 40°; man entschloss sich, das Fieber zu brechen durch Verabreichung von Chinin durch den Mund (1 g bisulf. in 3 Dosen), aber trotzdem kehrte das Fieber am 31. August um 2 Uhr Morgens wieder; sehr schwacher Anfall, Temperatur 39,2. — Die Blutprüfung liess das Hämatozoon der Quartana in seinen verschiedenen Phasen der Entwicklung erkennen. Nach weiterer Verabreichung von Chininsalzen kam das Fieber nicht wieder.

N. Parisi. Blutinjection mit Hämatozoon der Quartana.

Reation: Quartaner Fiebertypus.

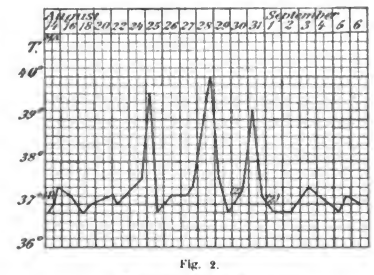


Fig. 2.

1. Blutimpfungstag. 2. Chinin.

Fall III: F. S. erhielt 1 ccm Blut der quartana, wie die andern, subcutan in den rechten Vorderarm injicirt. Zwei ganze Monate stand der Impfling unter unserer Controlle: er hatte in der ganzen Zeit keinerlei Leiden. Blutbefund immer negativ.

Fall IV: E. D. M. erhielt eine Injection unter die Haut des rechten Armes von ½ ccm Blut der quartana. Seit der Impfung sind einige Monate verstrichen und der Impfling hat keinerlei Beschwerden gehabt. Blutbefund auch negativ.

Diese erste Reihe von Versuchen führt zu mannigfachen Betrachtungen von hohem Interesse. Sie bestätigten zunächst vor allem andern die Experimente Gerhardt's und Calandruccio's, hinsichtlich der Transmissionsfähigkeit der Malaria

mittels subcutaner Injection von Malaria-Blut; dieser Weg war bisher von den Forschern vernachlässigt worden; denn dieselben haben, vielleicht unter dem wenig günstigen Eindruck der ersten negativ verlaufenen Versuche, ihre Zuflucht immer zu den Venen-Injectionen genommen. — Es wird nicht bestritten, dass die subcutane Injection nicht immer und nicht mit derselben Sicherheit positive Resultate zeitigt wie die Venen-Injection. Und gestützt auf meine beiden Experimente, die negativ verliefen, in denen dem einen Versuchsobject ½ ccm und dem andern 1 ccm Blut injicirt wurde, glaube ich annehmen zu müssen, dass die Menge des eingeimpften Blutes und somit auch die Anzahl der eingeimpften Parasitenelemente von grossem Einfluss auf den Ausgang des Experiments sind. Während thatsächlich bei Venen-Injection, auch mit nur kleinen Blutquantitäten, alle Malaria-Parasiten in den Kreislauf eintreten, wo sie ihre Evolution vornehmen, ist es andererseits sehr wahrscheinlich, dass bei subcutanen Injectionen ein grosser Theil von ihnen an Ort und Stelle zerstört wird, wie auch Mannaberg annimmt.

Ein anderes, noch wichtigeres Factum ist es, dass mit Blut eines an primitiver Quartana Erkrankten auch in beiden Fällen ein Fieber mit quartanem Typus ausgelöst würde. So wird der Gedanke von der Existenz verschiedener Malaria-Parasitenarten immer mehr bekräftigt, und wenn man in der glücklichen Lage ist, es mit Individuen mit reiner primitiver Malaria zu thun zu haben, so nimmt das positive Resultat die Kraft eines Gesetzes an.

Wir waren in der Lage, in dem an Quartana Leidenden, durch methodische Blutprüfung den Entwickelungskreis der Malaria-Parasiten der Quartana und den entsprechenden Fiebertypus, der eine grössere Zeit hindurch immer typisch blieb, verfolgen zu können; und das wird man immer bei den Individuen finden, die in den Orten wohnen, wo Malaria-Parasiten sich häufiger voneinander getrennt lebend vorfinden.

II. Experiment.

Impfung mit Blut mit Laveran'schen Malaria-Parasiten an einem gesunden Menschen (Fieber mit irregulärem Typus).

Ich hatte mich bereits entschlossen, da sich Versuchen dieser Art sehr viele Hindernisse entgegen stellten, es Andern zu überlassen, in ausgedehnter Form und unter günstigeren Verhältnissen zu arbeiten und Beweise für das Thema zu bringen, als ich auf den folgenden Fall stiess, dessen wichtige klinische Geschichte ich kurz anfüge; mit diesem konnte ich ein einziges Experiment nur vornehmen.

Am 10. September wurde ich zu einer armen Familie gerufen, wo der 15jährige Bursche P. Conti, der gemeiniglich in der Piana arbeitete, erkrankt war. Patient erzählte, dass er seit 4 Monaten dort das Fieber bekommen hat, das ihn täglich besuchte, jedesmal durch Schüttelfrost eingeleitet und mit Schweissausbruch endend. — Diese Fieber dauerten 3, 5, 6, 8 Tage lang an trotz grossen Chiningaben; dann liess das Fieber 10, 15 Tage lang nach. Jetzt lag er seit 4 Tagen wieder vom Fieber besucht, im Bett. Der kleine Patient hatte hohes Fieber; während des Tages hatte er zwei heftige Nasenblutungen gehabt, denen er auch schon früher oft unterworfen war; und ich überzeugte mich sofort, dass ich es hier mit einem Fall von Malaria-Infection zu thun hatte. — Ohne mich auf Weiteres einzulassen und ohne eine Blutprüfung vorzunehmen, verordnete ich 60 cg Chinin in 2 Dosen pro die. Nach einigen Tagen verschwand das Fieber. —

Ich sah dann den kleinen Patienten nicht weiter, bis ich nach 8 Tagen wieder gerufen wurde.

Der Knabe war von Neuem wieder von Fieber gepackt und es überkam ihn die Nasenblutung.

Jetzt entschloss ich mich Blutprüfung vorzunehmen und entnahm Blut durch Punctur aus dem Finger und Blut von der Nasenblutung. Der Befund war für beide Blutarten derselbe; rothes Blutkörperchen blass, Vermehrung der Leucocyten, vereinzelte Formen von kleinen, endoglobularen, pigmentlosen Hämamöben, einige Laveran'sche Sichelformen. Dieser Befund ist

identisch mit den weiteren, die wir in den folgenden Tagen constatiren konnten, überhaupt für die ganze, nicht gerade kurze Zeit, während welcher wir den Patienten in Beobachtung behielten.

Ich entschloss mich darauf, subcutan das Blut der Nasenblutung zu injiciren. Nachdem ich die ersten Bluttropfen aus der Nase hatte frei auslaufen lassen, und nachdem ich die Nasenhöhlen sorgfältig aseptisch gereinigt hatte, wurden die weiteren in einem Reagenzgläschen sterilisirten gesammelt, die gefüllt war mit ca. 2 ccm Wasser, welches gut sterilisirt war und auf einer Temperatur von 37° gehalten wurde. In wenigen Minuten hatte sich so viel Material gesammelt, dass ich eine ganze Anzahl von Experimenten hätte machen können; ich hatte aber nur die Gelegenheit, hiermit ein einziges auszuführen.

Fall I: Am 18. September um 2 Uhr Nachmittags impfte ich subcutan an zwei Punkten des rechten Armes 4 ccm Blut (2 ccm Blut in 2 ccm sterilisirtem Wasser) einem jungen Manne, (N. Petralia, Tischler, 16 Jahre alt), ein. — Das Versuchsobject hat niemals vorher an Malaria gelitten, sich auch nicht in Sumpfgegenden aufgehalten.

Während gut 14 Tagen, von der Injection an gerechnet, hatte der Impfling keinerlei Beschwerden; am 3. October gegen 11 Uhr Vormittags bekam er Kopfschmerz, Unbehagen, Uebelkeit, Erbrechen: er klagte über Schüttelfrost und darauf trat Fieber auf. Temperatur war nicht sehr gesteigert, 39,5° und legte sich gegen Mitternacht mit Schweiss. Tags darauf gegen 4 Uhr Nachmittags von Neuem Schüttelfrost, die Temperatur stieg auf 40°, um dann wieder auf 36,5° nach ca. 7 Stunden zu fallen, sich mit leichtem Schweiss legend. Am 5. gegen 6 Uhr Nachmittags ein neuer Anfall, die Temperatur steigt auf 39,8°, und fällt gegen Morgen des 6. — Nach zwei Tagen vollkommener Apyrexie hat der Kranke am 9. einen weiteren Anfall, der aber milder ist als die vorhergehenden: Temperatur 39,2°, vorhergehend keine starken Kälteschauer, doch fühlt sich Patient entkräftet. Am 10. hielt sich die Temperatur mehrere Stunden hindurch auf 38,5° dann fiel sie nach und nach bis auf 36,8° herab. Nach 5 Tagen vollkommener Fieberlosigkeit, am 16. ein neuer Anfall, bei dem die

Temperatur 39° erreichte, ohne vorhergehenden Schüttelfrost. — In den Abendstunden wird dem Patienten 1 gr. Chinin in 3 Dosen verabreicht, ferner ½ gr. am Morgen des 17. — Trotzdem trat im Laufe des Tages, gegen 11 Uhr Vormittags, ein weiterer Anfall, der letzte, auf, bei welchem die Temperatur auf 38,5° stieg. Mit diesem Tage nahm Patient täglich Chinin, wurde auch einer stärkenden Kur unterzogen, und so hat er seitdem keinerlei Rückfälle.

Die Prüfung des Blutes, die sorgfältig und zu verschiedenen Tageszeiten vorgenommen wurde, ergab folgenden Befund, den

N. Petralia. Blutinjection mit Sichelformen. Irreg. Fiebertypus.
Reaction: Irreg. Fiebertypus.

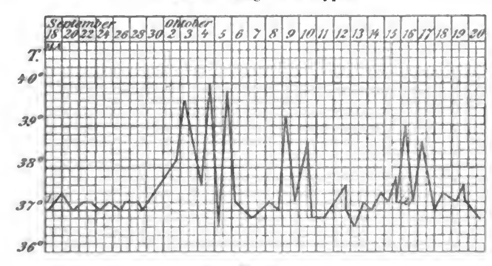


Fig. 3.
1. Blutimpfungstag. 2. Chinin.

wir hier kurz wiedergeben. — Negativ während der ganzen Zeit, die zwischen der Injection und dem ersten Fieber-Anfall lag. Am Tage des Anfalls, vor und nach diesem, endoglobulare, pigmentlose Formen in sehr grosser Anzahl, auch waren einige ovale endoglobulare Formen mit Pigmentkörnchen am Centrum vorhanden. Fast den gleichen Befund bis zum 10. — Am 11. zeigten sich ausser den endoglobularen, pigmentlosen Formen, die sehr vereinzelt vorkamen, einige sichelförmige Parasitenformen. Tags darauf vermehrten sich diese sichelförmigen Gebilde, und bei einigen zeigten sich Pigmentkörnchen. Vom 11. bis 17. wurden die Sichelformen seltener, und häufiger liessen sich einige ovale Formen mit Pigmentkörnchen am Centrum erkennen. Vom 17. an

zeigten sich dieselben Formen aber sehr selten, und einige Tage später ist die Prüfung eine vollständig negative, besonders in der letzten Zeit. Das allmähliche Verschwinden der verschiedenen Formen begann nach der Verordnung von Chinin.

Auch dieser Versuch bringt wichtige Betrachtungen. Thatsächlich entnimmt man aus demselben, dass durch Einimpfung von Malariablut mit sichelförmigen Gebilden Laveran's nach einer 14 tägigen Incubation ein Fieber ausgelöst wird, das keinen cyklischen Verlauf zeigt, wohl aber einen durchaus unregelmässigen Typus: dass dieses Fieber den Salzen des Chinin zuerst Widerstand leistet, dann aber endlich denselben weicht: dass die Blutprüfung zuerst, am Tage des Anfalles selbst, kleine endoglobulare, pigmentlose Gebilde erkennen lässt, und dann 23 Tage nach der Injection und 9 Tage nach dem ersten Anfall die ersten sichelförmigen Parasiten zu sehen sind, die zunächst anwachsen und dann später abnehmen bis zu gänzlichem Verschwinden, nach Chininverabreichung.

Um nun also den Schluss zu ziehen: wenn wir einen Blick auf den Verlauf des Fiebers richten, so finden wir einen ganz unregelmässigen Typus, wie noch besser aus der graphischen Tafel erhellt, wo der Fiebertypus des Individuums verzeichnet ist; und wenn wir Betrachtungen über die vorgefundenen Parasiten anstellen, so sehen wir, dass sie in ihrer Form und in ihrem Entwickelungsgang der Art ähnlich sind, welche in der Phase ihrer grössten Entwickelung durch die Sichelformen Laveran's belegt und bei den Fiebern mit unregelmässigem Typus beschrieben wird.

So würde also auch diese Parasitenform als eine Art für sich zu betrachten sein, die eingeimpft, sich mit dem Fiebertypus, der sich mit ihr verbindet, reproducirt.

Diese Beobachtung, die der Gualdi's und Antolisei's sehr analog ist, bestätigt und stützt die Behauptung von verschiedenen Malaria-Parasitenarten und ihrer Unabhängigkeit voneinander durch die verschiedenen klinischen, am Menschen gemachten Belege.

* * *

Aber die bisher gemachten Experimente beschäftigen sich, wie wir gesehen haben, mit der Einimpfung von Malaria-Parasitenformen in ein gesundes Individuum. Auf diese Erfahrungen gestützt, wollte ich einen Schritt weiter thun und eine wohl bekannte und wohl bestimmte Malaria-Parasitenart Individuen einimpfen, welche bereits gelitten hatten oder noch litten an andern Malariatypen, die ebenfalls genau studirt waren, um so besser zu sehen, ob eine wahre Unabhängigkeit der einzelnen Parasitenarten voneinander besteht, beim gelegentlichen Vorhandensein verschiedener wohl bekannter Parasitenarten in demselben Individuum.

III. Experiment.

Impfung mit Malariablut in ein an Malaria leidendes Individuum. — Injection von Blut mit Laveran'schen Formen in ein an Quartana krankes Individuum.

Der vorliegende Fall bezieht sich auf zwei an primitiver Malaria-Infection leidende Personen, die in täglichen und wiederholten Untersuchungen des Blutes und Betrachtung des entsprechenden Fiebertypus von den Collegen Grassi und Feletti und von mir beobachtet worden waren, und den wir lange Zeit hindurch studirten. Es bestand also kein Zweifel über den Bestand des Blutes der beiden Patienten, deren klinische Geschichte ich in Kürze anfüge. Beide hatten sich aus freien Stücken zum Versuch angeboten, da sie selbst lebhaftes Interesse an der Frage hatten.

S. P., 22 Jahre alt, hatte seit seiner Geburt keinerlei Krankheit gehabt. Im Juli begab er sich, seinem Berufe folgend, in Malaria-Gegenden, 12 Tage nach seiner Ankunft wurde er von einem Fieber befallen, dem Schüttelfrost vorherging und das mit reichlichem Schweiss wich. Das Fieber kehrte am nächsten Tag wieder und erhielt sich längere Zeit unregelmässig. Patient war nach Catania zurückgekehrt und nahm Chinin, das Fieber verschwand für einige Tage, erschien aber später wieder. Die thermographische Tafel zeigt, dass das Fieber des Patienten einen sehr unregelmässigen Verlauf hatte. Auf 2, 3, 4 Tage heftigsten Fiebers, während welcher die Temperatur auf 40—41 ° stieg, folgte vollständige Apyrexie für 8—10 Tage; auf diese folgten dann wieder

neue Anfälle für weitere 1—2 Tage mit einer Temperatur von 39°—40° und dann trat von neuem eine lange fieberlose Zeit auf, sich auf 10, 15—20 Tage erstreckend.

Die Prüfung des Blutes wurde sorgfältig einige Monate hindurch betrieben und zwar mehrmals am selben Tage; sie liess nichts anderes erkennen als beständig sichelförmige Gebilde, die bald von kleinen endoglobularen, pigmentlosen Formen, bald von solchen mit Pigmentkörnchen gegen das Centrum hin begleitet waren.

Gut zwei Monate hindurch wurde täglich die Beobachtung des Blutes des Individuums vorgenommen; dieselbe ist immer von dem gleichen Befund gewesen.

P. A. ist das zweite Individuum: 15 Jahre alt, ist seit seiner Kindheit niemals krank gewesen. Er hat sich vom Juni bis zum August 1889 in Malaria-Orten aufgehalten und sich dort eine Quartana triplex zugezogen, welche sich mit leichten Schwankungen bis zum 7. Januar 1890 hinzog und zuletzt den einfachen quartanen Typus beibehielt. — Patient vernachlässigte sein Fieber, nahm keine Heilmittel. Das Fieber kam immer in den Vormittagsstunden mit vorausgehendem Schüttelfrost und fiel am Nachmittag mit vielem Schweiss, nachdem es immer eine zwischen 40 und 40,5° schwankende Temperatur erreicht hatte. Das Blut war Gegenstand sorgfältigster Prüfungen während der ganzen langen Zeit, die Patient die Institute der Zoologie und klinischen Propädeutik und Hygiene besuchte, und gab folgenden Befund. Nach dem Anfall zeigten sich endoglobulare, pigmentirte Formen, von kleiner und im Umriss sehr regelmässiger Gestalt und später reifere, grössere Formen, wenig regelmässig, mit Pigmentanhäufung gegen das Centrum und einige mit beginnender Scission und dann kurz vor dem Anfall die gewohnten Formen der schon erfolgten Scission, also im Ganzen der volle Kreisgang des Parasiten der Quartana.

Am 31. Januar blieb Patient ohne das erwartete Fieber, er hatte keinen Schüttelfrost und die Temperatur hielt sich diesen Tag normal. Im Blut wurden mit der eingetretenen Apyrexie die Hämomöben der Quartana seltener und seltener. An diesem

selben Tage wurde dem Patienten mittelst Venen-Injection, und zwar in die vena basilica des rechten Armes dieses an Quartana leidenden Individuums, ein wenig weniger als 2 ccm vom Blute eingeimpft, das mit den gewohnten Cautelen aus der Mittelvene des rechten Armes von dem Individuum S. P. genommen war; dieses Blut enthielt halbmondförmige Parasiten, wie ja auch schon oben in der Geschichte des Falles eingehend berichtet worden.

Der an Quartana leidende Patient, an dem so diese Impfung vorgenommen worden, hatte von der Injection, der er sich unterzogen, nichts zu leiden, auch nicht jene zeitweise Temperaturerhöhung, welche bisweilen hierbei von den Experimentatoren angezeigt wurde wie eine Reaction der Injection.

Die Blutprüfung, die sorgfältig von mir vorgenommen wurde, und zwar zu verschiedenen Stunden, und die von den Collegen Grassi und Feletti controlirt wurde, und die Schwankungen der Temperatur gaben folgendes Resultat, wie ich es kurz aus den Aufzeichnungen des Laboratoriums wiedergebe.

In den ersten Tagen nach der Injection wurden die Hämamöben der Quartana sehr selten bis zu ihrem vollständigen Verschwinden.

Die Temperatur hielt sich bis zum 16. Februar bei kleinen Schwankungen ohne jede Bedeutung.

Von dem Tage an begannen sich kleine endoglobulare, pigmentlose Formen von neuem zu zeigen, zuerst in kleiner Anzahl (vom 16. bis 20. Februar), dann während einiger aufeinander folgender Tage (21. und 22. Februar) in recht beträchtlicher Anzahl, um dann schliesslich immer mehr und mehr abzunehmen, bis zum 25., an welchem Tage sich zum ersten Male halbmondförmige Gebilde und zwar in bescheidener Anzahl erkennen liessen; diese blieben dann längere Zeit.

Die Temperatur, welche bis zum 16. Februar sich normal gehalten hatte, begann vom 16. bis zum 20. stärkere Schwankungen zu zeigen, welche bis 38° gingen. Und der Patient, der sich bis zum 16. leidlich wohl gefühlt hatte, begann dann Mattigkeit, Kopfschmerz, Uebelkeit und Appetitlosigkeit zu fühlen, so dass er das Bett aufsuchte.

Am 21., 6 Tage nach dem neuen Auftreten der kleinen endoglobularen. runden Formen und 5 Tage vor dem ersten Erscheinen der Halbmondformen im Blute, d. h. 21 Tage nach erfolgter Injection und ungefähr 5 Tage nach den ersten fiebrischen Störungen, welche 16 Tage nach der Impfung auftraten und die

P. A. an Quartana krank, geimpft mit Blut von S. P. sichelförmig.

Reaction in P. A. von irreg. Fiebertypus.



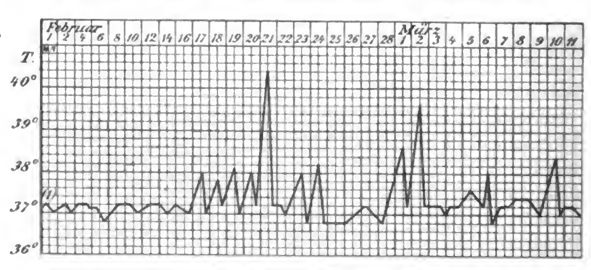


Fig. 4 und 5. 1. Blutimpfungstag.

mit dem Vorhandensein der endoglobularen Formen zusammentrafen, erwachte Patient mit sehr hohem Fieber, das ihn in der Nacht befallen hatte und dem heftiger Schüttelfrost vorhergegangen war. Am Morgen war die Temperatur 40,5° und gegen Mittag ging sie zurück bei reichlichem Schweiss.

Am 22. Apyrexie und endoglobulare Formen im Blut.

Am 23. und 24. hob sich in den Vormittagsstunden die Temperatur auf 38°, um dann in den Abendstunden der betreffenden Tage wieder zu fallen.

Am 25. vollkommene Apyrexie, im Blut Auftreten von Sichelformen.

Vom 25. bis zum 28. dauerte die Apyrexie an, Sichelformen blieben gegenwärtig.

Vom 1. März an zeigten sich verschiedene Temperaturerhöhungen, ohne Bestand, ohne Form, die eine geraume Zeit einen durchaus unregelmässigen Verlauf hatten, aus dem kein charakteristischer Typus erhellte. Es zeigte sich keine Rückkehr zum Fiebertypus der primitiven Quartana.

Dann wurde Patient mehrere Monate einer strengen Behandlung unterzogen, und in Verfolg derselben schwanden die Sichelformen, schwanden die endoglobularen Formen und schwand auch das Fieber.

Aus der vorliegenden Beobachtung einen Schluss ziehend, finden wir die folgenden, uns wichtig erscheinenden Thatsachen.

Von der Injection bis zu den ersten fiebrischen Störungen verliefen 16 Tage, dann traten starke Anfälle auf, nach 21 Tagen. Die Fiebercurve zeigte sich während dieser Zeit und auch später sehr unregelmässig.

Im Blut zuerst vollständiges Verschwinden der quartanen Formen. Auftreten der ersten endoglobularen Formen ohne Pigment 16 Tage nach der Injection und Auftreten der Sichelformen 25 Tage nach der Injection. Zusammentreffen der endoglobularen, pigmentlosen Formen mit den ersten fieberischen Störungen. Neben den Sichelformen zeigten sich andere ovale Formen mit Pigment im Kranz, die dem Entwickelungsgang dieser Species der Malaria-Parasiten angehören.

Man hat also dadurch, dass man Blut, welches Sichelformen enthielt, einem schon mit Malaria, und zwar mit quartanem Typus, inficirten Individuum einimpfte, ein Fieber mit unregelmässigem Verlauf ausgelöst und auch die entsprechende Reproduction der halbmondförmigen Gebilde mit dem ganzen Entwickelungsgang, der dieser Parasitenspecies angehört.

Dies ist der erste Fall, der bisher beschrieben wurde, von Einimpfung einer wohlbekannten Malaria-Parasitenspecies in das Blut eines anderen Individuums, das bereits an Malaria litt, bei dem das Blut eine andere, ebenfalls genau bestimmte Malaria-Parasitenspecies enthielt. Aus diesem Fall ergibt sich, dass es nicht möglich ist nachzuweisen, selbst nicht, wenn man mit von Malaria inficirten Individuen experimentirt, dass sich eine eingeimpfte Parasitenart in eine andere Art ändert, möge man auch eine lange Zeit hindurch die strengsten Untersuchungen des Blutes des Impflings immer und immer wieder vornehmen.

Mit diesem Gegenstand werden wir uns aber eingehender beschäftigen, nachdem wir die Ausführung des folgenden zweiten Falles erledigt haben.

IV. Experiment.

Impfung von Blut eines an Quartana Leidenden in ein Individuum mit Laveran'schen Parasiten.

Der vorliegende Fall bezieht sich auf eines der vorher schon bezeichneten Objecte, d. h. auf P. A., der, wie wir schon bei Wiedergabe seiner klinischen Geschichte gesagt haben, Fieber mit quartanem Typus hatte (Quartana entweder triplex oder simplex) und in dessen Blut die dem Hämatozoon der Quartana charakteristischen Parasitenformen vorhanden waren, und auf ein zweites an Malaria krankes Individuum mit sichelförmigen Parasiten, P. S., von dem wir hier nachstehend kurz gewisse Daten geben werden.

Dieser Patient, mit sichelförmigen Parasiten behaftet, hat eine sehr kurze klinische Geschichte, die in wenigen Worten wiederzugeben ist. Patient ist 19 Jahre alt, ohne hereditäre Belastung, hatte keine Krankheit bisher.

Als er seinem Berufe folgend in Malaria-Gegenden arbeitete, wurde er fieberkrank. Das Fieber erhielt sich mit unregelmässigstem Typus ungefähr 6 Monate hindurch Patient holte sich das Fieber gegen Ende October und war von dieser Zeit an bis Ende März unter der Beobachtung der Collegen Grassi und Feletti, welche täglich sein Blut und den Fieberverlauf prüften.

Von der Zeit an, als zum ersten Male die Blutprüfung vorgenommen wurde, konnte man die Sichelformen bemerken neben anderen kleinen, endoglobularen Formen ohne Pigment. 6 Monate hindurch war der Blutbefund immer derselbe, er liess immer die vorgenannten Formen erkennen. In den letzten Zeiten begannen die Sichelformen jedoch sich karger sehen zu lassen.

Während dieser ganzen Zeit wurde durch die Blutprüfung immer mehr bestätigt, dass die Sichelformen und die anderen Gebilde des Entwickelungsganges sich nicht in Formen einer anderen Species umgestalteten. Patient war nach 6 Monaten, die er sich beständig unserer Beobachtung unterworfen hatte, noch immer mit sichelförmigen Parasiten belastet, und wir waren daher hinsichtlich der Reinheit des vorliegenden Falles vollkommen sicher.

Das Fieber war, wie wir gesagt haben, ein ganz unregelmässiges, es befiel den Patienten immer ganz plötzlich, ohne dass er es erwarten konnte. Bald traten lange Zeiträume von Apyrexie auf, die von 1, 2, 3 Fiebertagen unterbrochen wurden, in denen sich dann bisweilen an ein und demselben Tage 2 Anfälle zeigten, bald waren die Zwischenräume kürzer und die Anfälle folgten schneller aufeinander oder waren vereinzelter.

Die klinische Geschichte des an Quartana Leidenden ist schon oben aufgeführt worden und auch der resp. Blutbefund ist bereits mitgetheit worden.

Wir hatten also Individuen, welche lange Zeit hindurch beobachtet worden waren, mit primitiver Malaria-Infection, zwei durchaus reine Fälle, der eine mit unregelmässigem Fieber und mit dem halbmondförmigen Hämatozoon im Blut, der andere mit einem Fieber mit regelmässigem quartanen Typus und mit dem Hämatozoon der Quartana im Blut.

Am 20. März, es war dies ein Apyrexietag für das semilunäre und das quartane Individuum, wurden mittels Venen-Injection dem Individuum mit dem Halbmondformen in eine der oberflächlichen Venen des Armes ca. 2 ccm vom Blut aus dem an Quartana Leidenden eingeimpft.

Der Impfling hatte keinerlei Leiden nach der Injection zu verspüren, das man als Reaction hätte ansehen können, keine

Temperaturerhöhung weder wenige noch viele Stunden nach der Injection.

Vom 21. an war das Blut dieses Objectes Gegenstand langer und wiederholter. täglicher Beobachtungen. Auch die Temperatur wurde streng mehrere Male des Tages nach Methode genommen. Kurz berichte ich nachstehend über die mikroskopischen Beobachtungen und die entsprechenden thermometrischen, wie sich dieselben aus dem Journal des Laboratoriums ergeben.

Für die Zeit vom 21. März bis zum 3. April, d. h. 14 Tage, kann man den Blutbefund in wenige Worte zusammenfassen. Die Sichelformen, welche vor der Injection ziemlich zahlreich waren, wurden immer seltener bis zu ihrem vollständigen Verschwinden; die endoglobularen, pigmentlosen Formen, welche schon vereinzelt waren, verminderten sich ebenfalls immer mehr, bis sie verschwanden und ihr Verschwinden erfolgte einige Tage eher als das der Sichelformen.

In dieser Zeitpause von 14 Tagen schwankt die Temperatur immer um den normalen Stand herum mit unbedeutenden Differenzen von einigen Gradpunkten. über oder unter 37°.

Am Morgen des 4. April liess die Blutprüfung des Individuums, welches sich immer noch im Apyrexiestadium befand, endoglobulare, pigmentlose Formen erkennen; einige liessen leichte, amöboide Bewegungen, aber sehr träger Art, erkennen, einige waren auf dem Wege der Scission.

Aus diesem Befund, der nicht wenig überraschte, liess sich ein naher Anfall schliessen. Es vergingen in der That wenige Stunden und das Individuum wurde von heftigem Kopfschmerz, sehr starkem Schüttelfrost, von Uebelkeit, von Erbrechen und endlich von einem Anfall starken Fiebers befallen; während desselben stieg das Fieber gegen Mittag bis auf 40,2°. Gegen Abend war die Temperatur noch 39°, aber später begann sie dann sich bei starkem Schweissausbruch zu senken.

Am 5. liess die Blutprüfung rothe Blutkörperchen mit endoglobularen, kleinen, pigmentirten und durchaus runden Formen erkennen und am 6. zeigte sich eine vermehrte Menge der pigmenthaltigen Formen, dieselben waren aber grösser und mit

unregelmässigen Contouren; endoglobulare Formen ohne Pigment fehlten.

Die Temperatur sank in den zwei oben erwähnten Tagen, am 5. und 6., gleichsam auf normalen Stand, hielt sich auch einige Zehntel Grad unter 37°. Es waren dies also zwei Tage vollkommener Apyrexie.

Am 7. Morgens liess die Blutprüfung das Verschwinden der pigmentirten Formen erkennen, man unterschied einige sehr vereinzelte, endoglobulare Formen ohne Pigment.

P. S. Sichelförmiger, geimpft mit Blut von P. A., an Quartana krank.

Reaction in P. S. von quartana Fiebertypus.

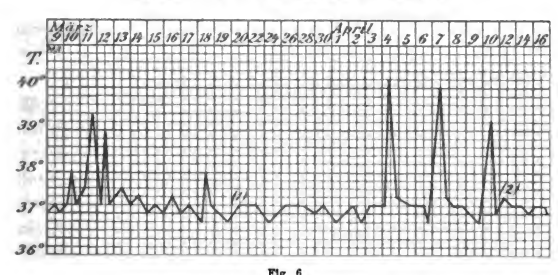


Fig. 6.

1. Blutimpfungstag. 2. Chinin.

Die Temperatur erhob sich indessen, nachdem sie am Morgen 36,8° gezeigt hatte, gegen Mittag auf 40,2°. Jedoch war der Fieberanfall sehr mild; er dauerte nicht so viel Stunden an wie der erste.

Dann zwei weitere Apyrexietage (8. und 9.) mit Formen im Blut, die denen gleichen, welche schon bei dem ersten fieberlosen Stadium beschrieben worden, dann am 10. ein weiterer Fieberanfall mit endoglobularen und pigmentlosen Malaria-Parasitenformen.

Patient nahm Chinin. Das Fieber wiederholte sich oft und nach 15 Monaten, während welcher Zeit Patient sich niemals von Catania entfernt hat und immer unter unserer Beobachtung

geblieben ist, hat er noch Fieber mit quartanem Typus! mit kurzen Zeiten von Apyrexie, die wohl auf Conto des Chinin zu schreiben sind.

Wir fassen nun die Beobachtung so zusammen: In Verfolg der Impfung von Blut aus der Quartana in ein Individuum mit halbmondförmigen Parasiten sind die in letzteren enthaltenen Sichelformen zuerst selten geworden, um dann später vollständig zu verschwinden; es liegen zwischen Injection und dem ersten Fieber-Anfall 15 Tage; man erhielt ein Fieber mit quartanem Typus; man erblickte im Blut die ersten Formen des quartanen Parasiten 15 Tage nach der Injection und dann konnte man alle die anderen Formen des Entwicklungswesens dieses Hämatozoon nachweisen.

Aus diesem zweiten Versuch, welcher den Ansichten über die Aetiologie der Malaria viel neues Material zuführte, das Resultat des ersten Versuches bestätigt, ergibt sich auch, dass das Hämatozoon der Quartana, eingeimpft in ein Individuum, das mit Malaria behaftet ist und in seinem Blute wirklich andere wohlbekannte Parasiten-Arten (Laveran'sche Formen) führt, sich sehr wohl wieder reproduciren kann, unabhängig von den primitiv vorhandenen Parasitenformen, und dass es, ohne irgend welche Aenderung in seinem biologischen Verlauf zuzulassen, klinisch den Fiebertypus auslöst, welcher an dieses selbe Hämatozoon geknüpft wird.

Es ist also sehr wahrscheinlich, dass in der Malaria-Infection eine neue Parasitenart, die in das Blut eintritt, manchmal und unter besonderen, sicherlich nicht leicht zu bestimmenden Verhältnissen die Bekundungen vom Leben und von der Ausbreitung eines anderen schon früher vorhandenen Parasiten anhalten oder über ihn die Oberhand gewinnen kann; dass dann dieses letztere nach kürzerer oder längerer Zeit und in Verfolg bestimmter Vorbedingungen des Organismus aus dem latenten Stadium hervorgehen und sei es nun gleichzeitig mit dem eingeführten Parasiten oder sei es nach dessen Erschöpfung, seinem natürlichen Ent-

wicklungsgang mit dem entsprechenden klinischen Typus folgen kann.

So würde eine natürliche Erklärung gefunden sein für das erste Erstaunen Gualdi's und Antolisei's[1]), für den von ihnen im Jahre 1889 studierten Fall[2]) des Individuums Lupi; bei diesem, welcher schon vorher am 10. Mai mit Blut geimpft wurde, welches von einem an Quartana leidenden Individuum stammte, das schon ausser dem letzten auch an verschiedenen anderen Malaria-Fiebertypen gelitten hatte, sahen die Verfasser gegen Ende September (d. h. ungefähr 5 Monate nach der Injection) einen letzten Rückfall auftreten, in dessen Verlauf der Patient, ohne dass er das Hospital verlassen hatte und ohne dass die Möglichkeit einer Neuinfection gegeben war, in seinem Blut neben den Amöben auch sichelgestaltige, eiförmige, runde und geisselförmige Formen zeigte.

Auch würde so durch das Experiment der andere Fall eine Controle finden, der von Antolisei und Angelini[3]) an der Person des Isopi Luigi beobachtet wurde: dieser Patient hatte einige Jahre hindurch an Malariafiebern mit verschiedenen Typen gelitten und kam zum Hospital, Heilung suchend von Fieber mit quartanem Typus, wie es durch den entsprechenden mikroskopischen Blutbefund belegt wurde. — Der quartane Typus schwand jedoch nach einigen Anfällen von selbst und mit diesem Schwinden zugleich ging das Untergehen der Parasitenformen der Quartana vor sich. Als Patient dann jedoch nach einigen Apyrexietagen auf Verordnung des Arztes zur Reinigung ein ziemlich kaltes Bad genommen hatte, wurde er von Schüttelfrost und von hohem Fieber betroffen: dieses hielt dem Chinin Stand und war nicht mehr mit quartanem Typus verbunden, nahm vielmehr einen ganz unregelmässigen Verlauf an, und es zeigten sich gleichzeitig im Blut zunächst endoglobulare, pigmentlose und dann semilunare Formen[4]).

1) Antolisei. Considerazioni intorno alla classifica dei parasiti della malaria. (Rif. Med., Apr. 1890.)

2) Gualdi und Antolisei. Due casi di febbre malarica sperimentale. (loc. cit.).

3) Archivio italiano di Clinica Medica. Milano 1890.

4) Es ist bekannt, dass Individuen, welche von einer Malaria-Infection geheilt sind oder sich wenigstens geheilt glauben, da sie sich speciellen

So würden endlich eine Klärung alle die vielen Fälle erfahren, die unrein waren und die Schwierigkeiten beim Erforschen der Aetiologie der Malaria vermehrten. Und es würde eine Controle durch das Experiment für die Thatsache gefunden sein, welche von der Klinik hervorgehoben und von Antolisei ausgedrückt worden [1], dass nämlich ein Nebeneinanderbestehen mehrerer Malaria-Parasitenarten in ein und demselben Individuum, das wiederholt an Malaria-Infection gelitten hat, möglich sei; denn manchmal zeigt sich im periferischen Blut, das doch gewöhnlich zur Beobachtung genommen wird, nur eine Species, die eben die Ursache des letzten Fiebers ist, während sich die andern Arten in einem latenten Zustand und in andern Organen halten, um die Zeitpunkte abzuwarten, die ihnen als Momente ihrer Ausbreitung und ihrer schnellen Reproduction im Blut bestimmt sind. — Und so wird der Patient mittels therapeutischer Behandlung von einer vorhandenen Art geheilt werden können, um dann Rückfällen, durch andere verborgene und widerstandsfähige Formen hervorgerufen, zu begegnen.

Gleichzeitig mit meinen Versuchen wurden im zoologischen Laboratorium Grassi's von Dr. Calandruccio zum selben Beweis Versuche gemacht, und die erreichten Erfolge waren in gleicher Weise wichtig.

Eine dieser experimentellen Beobachtungen ist mit den eigenen Worten Calandruccio's in einer vorbereitenden Abhandlung Grassi's und Feletti's mitgetheilt worden [2]).

Calandruccio hat das Experiment an sich selbst ausgeführt. Am 10. Dezember nahm er von einem Malaria-Patienten, der an Quartana — bald triplex bald simplex — krankte, 1 ccm Blut und

Behandlungen unterzogen und Monate und Jahre bereits fieberlos sind, von Rückfällen, die auf verschiedene Ursachen zurückzuführen, befallen werden: z. B. bei traumatischen Wirkungen bei Geburt (Cuzzi), bei Kindbett (Macario), bei Einwirkung eines Abführmittels (Torti), bei Aderlass (Ramazzini), bei einem ersten Bad (Hertz) etc. etc.

1) loc. preced. cit.

2) Grassi und Feletti. Nuova contribuzione allo studio della malaria. Bollet. Acc., Gioenia 25. I. 91.

injicirte sich dasselbe subcutan in den linken Arm. Während 17 Tagen, die auf die Injection folgten, befand er sich stets wohl, am 18. Tage wurde er von einem Anfall von Malariafieber getroffen. der sich eine gewisse Zeit hindurch mit dem Typus der Quartana — bald simplex, bald triplex — wiederholte. Der mikroskopische Blutbefund, der geraume Zeit hindurch immer genau aufgenommen wurde, bestätigte die Diagnose auf Quartana.

Calandruccio hatte niemals an Malaria gelitten, noch war er in Sumpforten gewesen. — Das Chinin brach sofort die Quartana. Als Calandruccio dann vollständig geheilt war, wollte er einige Zeit darauf wiederum an sich selbst ein anderes Experiment vornehmen. Er nahm von einem Patienten, der mit primitiver Malaria-Infection mit unregelmässigem Fieber befallen war, und in dessen Blut durch ein lang andauerndes, sehr genaues Studium nur die Halbmondformen festgestellt wurden, ca. 1 ccm Blut und injicirte sich dasselbe subcutan in den Arm. 15 Tage darauf wurde er von einem ersten Fieberanfall betroffen und dann von weiteren Anfällen, die aber ohne regulären Typus auftraten. Die Blutprüfung wurde methodisch wiederholt vorgenommen und liess neben endoglobularen Formen der kleinen Amöben die Halbmondformen erkennen. — Die Heilung von diesem Fieber erfolgte durch Chinin [1]).

Es ist natürlich, dass diese Versuche wegen der Strenge, mit der sie geführt wurden, frei von jedem Einwand sind, und sie verdienen ihrerseits besondere Beachtung.

Nach diesen Experimenten erschien auch die Arbeit Bein's [2]), aus der sich ergab, dass auch dieser Autor seit Mai 1890 Versuche zum selben Thema angestellt hatte und zwar in den Kliniken Leyden's und Senator's.

Er hat 8 Injectionen zum Versuch gemacht, in 4 derselben erhielt er ein vollständiges Resultat, in zwei war das Resultat

1) Dr. Calandruccio hat noch andere Versuche mit positiven Resultaten geführt. Seine vollkommenen Beobachtungen werden in Kürze veröffentlicht.

2) Bein. Aetiolog. und experiment. Beiträge zur Malaria. Charité-Annalen, XVI. Jahrgang.

nicht nachweisbar, in 2 war es negativ. Von den 4 positiven Fällen mit denen wir uns hier ausführlicher aus speciellen Gründen, die bei der Discussion der Fälle in Betracht gezogen werden müssen, beschäftigen, war in dem einen Venen-, in den andern drei subcutane Injection geübt worden: in den vier zweifelhaften bezw. negativen Fällen war durchweg subcutane Injection zur Anwendung gebracht worden. Die Incubationszeit schwankte zwischen 9 und 12 Tagen.

Von einer Patientin, die an Malaria mit tertianem Typus litt, nahm er 2 ccm Blut und impfte dieselben durch Venen-Injection einem Individuum ein, das niemals an Malaria gelitten hatte und sich im Hospital wegen eines andern Leidens (multiple Lymphosarcomatose) aufhielt. Nach 11 Tagen zeigte der Impfling ein Fieber, welches sich eine gute Zeit hindurch mit quotidianem Typus hielt, bis es mit Chinin geheilt wurde.

Von diesem Individuum, das so mittels Experiments mit Malaria von quotidianem Typus inficirt war, wurde während der Fieberperiode Blut genommen und zwei andern Individuen subcutan injicirt, die sich in der Klinik wegen chronischer Leiden befanden.

Neun Tage darauf wurden diese beiden Impflinge von Fieber befallen, das bei dem einen den primitiven tertianen Typus annahm, und bei dem andern zuerst den tertianen Typus (4 Anfälle) und dann den quotidianen Typus.

Gleichzeitig muss bemerkt werden, dass die mikroskopische Blutprüfung, so weit es sich um die Parasitenformen handelt, in beiden Objecten ein gleiches Resultat ergab, das auch dem der Impfquelle glich, die einem Patienten angehörte, der seinerseits mit Blut aus der Tertiana geimpft worden war.

Der 4. Fall bezieht sich auf einen Patienten, der sich z. Zt. in der Klinik aufhielt; derselbe wurde mit Blut geimpft, das von einem an Intermittens quotidiana (?) Leidenden genommen war. Nach 12 Tagen wurde Impfling von Fieber befallen, das den quotidianen Typus wieder zeigte. Die Blutprüfung liess in dem Impfling den injicirten ähnliche Formen erkennen, welche keine Abweichung von den Parasitenformen der an Tertiana kranken Patientin zeigte.

Die Resultate Bein's, obschon sie von dem Autor unter einem Gesichtspunkt, den wir nicht theilen, ausgelegt wurden, haben übrigens in derselben Weise grosses Interesse.

Bein fusst auf der Thatsache, dass man in Verfolg der Impfung mit Blut aus der Tertiana ein Fieber mit quotidianem Typus erhielt, und dass sich durch Impfung des Blutes dieses Individuums dann wieder der tertiane Typus und der quotidiane ergab, und kommt schliesslich zu dem etwas übereilten Schluss, dass man bei Benutzung einer Quotidiana als Impfquelle eine tertiana auslösen kann und umgekehrt. — Und somit sagt der Autor, würde der Satz Golgi's, der die verschiedenen Malaria-Parasitenarten als verschiedenen Fiebertypen entsprechend hinstellt, wenigstens in Hinsicht auf die Tertiana und die Quotidiana, nicht bestätigt; und dies um so mehr, es ist dies immer die Deduction Bein's, da eine Verschiedenheit der Parasitenformen bei den beiden Fiebertypen nicht constatirt wurde.

Es gibt nun aber in Wahrheit viele Einwände, die man Bein machen muss, und ich schliesse mich in allen Punkten den Ausführungen an, die in hervorragender Weise Mannaberg[1]) in seiner wichtigen Arbeit aufstellt.

Und thatsächlich muss man, da die Blutprüfung bei beiden Fiebertypen dasselbe Resultat ergab, genau in Erwägung ziehen, dass man es hier mit einer Tertiana zu thun hatte, die bald als Tertiana simplex, bald als Tertiana duplex auftrat, und dass nur zwei Generationen der tertianen Parasiten vorlagen, welche in ihrem Entwickelungsgang sich immer alternativ auswechselten und mit 24 Stunden Zwischenraum immer den beobachteten quotidianen Typus vollendeten.

Bei den in der klinischen Praxis beobachteten Fällen und auch oft bei durch Experimente erzeugter Malaria kann man sehr oft die Beobachtung machen, dass eine Quartana simplex in eine Quartana duplex oder triplex übergeht, oder dass eine Tertiana simplex eine duplex wird. Man weiss sehr wohl, dass in allen diesen Fällen der Parasit, der den Grundtypus erzeugt, ein ein-

1) Mannaberg. Die Malaria-Parasiten, Wien 1893, S. 76.

heitlicher ist, aber die Generationen desselben können zwei oder drei sein (zwei im vorliegenden Falle) und können ihren Entwickelungsgang immer in derselben Zeitspanne vollenden: so ändern sie also anscheinend die Grundform des Typus. —

Der Satz Golgi's würde somit durch die Beobachtungen Bein's nicht entkräftet werden, würde vielmehr immer mehr bestätigt werden. Wenn nun Bein hingegen gesehen hätte, dass eine Tertiana eine Quartana geworden wäre oder umgekehrt, dann hätten allerdings seine Bekundungen Werth gehabt. Und schliesslich ist es für jeden, der sich eine Zeit lang mit dieser Materie beschäftigt hat, vollkommen klar, dass die auf Experimente gestützten Forschungen Bein's wichtig sind und in ihrem Endresultat, das die Transmission des Fiebertypus behandelt, mit den anderen oben berichteten Resultaten gleich und analog sind.

Die Reihe der experimentellen Forschungen zu dem besagten Thema schliesst Baccelli[1]) selbst, unter dessen bewährter Leitung in der Klinik zu Rom die ersten Experimente unternommen wurden, durch welche die zweite Phase dieser Untersuchungen anfing, die den ersten Anstoss zur experimentellen Lösung der Frage von der Beziehung zwischen Fiebertypus und Malaria-Parasitenformen geben sollten.

Er impfte durch Venen-Injection Blut eines an Malaria tertiana mit dem Typus der Tertiana duplex Leidenden einem sich wegen eines chronischen Leidens in der Klinik befindlichen Individuum ein und erhielt bei diesem Patienten nach 6 tägiger Incubation die Auslösung des tertianen Fiebers mit demselben Typus der Tertiana duplex, und er konnte im Blut des Impflings die beiden Generationen der tertianen Parasiten constatiren. Er impfte ferner Blut eines Individuums mit Quartana in einen anderen Patienten der Klinik, dem chronische Leiden anhafteten, und konnte bei demselben nach 12 Tagen ein Fieber erzeugen, das den quartanen Typus mit sechs charakterisirten Anfällen zeigte; nach diesen wurde Chinin verabreicht und das Fieber so gedämpft. Die Prüfung des Blutes des Impflings liess den Parasiten der Quartana erkennen.

1) Lavori del. V. Congresso di Medicina Interna, Ott. 1892.

Im ersten Fall war man sicher, dass der Patient an Tertiana durch primitive, reine Infection litt, da man lange Zeit hindurch den Fiebertypus verfolgt hatte und auch gleichzeitig sorgfältig die Blutprüfung vorgenommen hatte. In diesem Falle entsprach dem Fiebertypus der Tertiana duplex ein Befund von zwei Generationen des Parasiten der Tertiana, die methodisch studirt wurde.

Im andern Falle war das Individuum, das seit kurzer Zeit an Quartana litt, Monate früher an Malaria mit tertianem Typus krank gewesen und war von diesem Leiden wieder geheilt worden. War schon dies kein Fall von primitiver Malaria-Infection, so war doch vorauszusetzen, dass der Patient von der ersten Infection mit tertianem Typus geheilt war. Und dieser Fall ist von grosser Wichtigkeit, denn er reproducirt natürlich, was schon auf experimentellem Wege gemacht wurde und bestätigt, dass ein und dasselbe Individuum an Malaria-Infection mit einem bestimmten Typus erkranken kann, um dann einer Malaria-Neuinfection zum Opfer zu fallen mit anderen Parasiten, die dann einen dem ersten nicht gleichen Fiebertypus geben.

Hier glauben wir nun, gestützt auf unsere hier wiedergegebenen Erfahrungen und ausgerüstet mit den Belegen, die von anderen Autoren in dieser letzten Zeit durch Versuche gegeben wurden, gegenüber den Schwierigkeiten, welche die verschiedenen Auslegungen bieten, unsere Anschauungsweise zu der bis auf den heutigen Tag von berühmten Forschern so lebhaft erörterten Frage ausdrücken zu können, hinsichtlich des Vorhandenseins der Unität oder Multiplicität von Malaria-Parasiten und hinsichtlich der Beziehungen zwischen den Parasitenformen und dem Fiebertypus.

Und unzweifelhaft musste diese Frage die verschiedenen Phasen durchmachen, die das Studium der Malaria erfahren hat, und die Lösung der Frage musste, mögen auch hierüber andere Ansichten vorliegen, zum grossen Theil auf experimentelle Versuche gestützt sein.

Die Versuche zum vorliegenden Thema können wir als zu zwei Perioden gehörig trennen; eine erste Periode, reichend von

1884 bis 1889 und eine zweite Periode von 1889 bis zum heutigen Tag. Man sieht, dass in der ersten Periode, wo die Namen Gerhardt, Mariotti und Ciarocchi, Marchiafara und Celli, Gualdi und Antolisei figuriren, die Forscher in Anbetracht der Schwierigkeit, eine Kenntnis der Aetiologie der Malaria zu erlangen, nur sehr begrenzte Resultate erhielten; aber sie bereiteten das Feld zur Lösung der oben bezeichneten Frage vor.

In der zweiten Periode, von 1889 an, figurirt in erster Linie die zweite Reihe der Versuche der klinischen Schule zu Rom, welche den Beginn der neuen Phase einleiten, die mit den Versuchs-Experimenten Baccelli's selbst abschliesst.

Gualdi, Antolisei und Angelini konnten sich erst nicht entschliessen, die Ansichten Golgi's anzunehmen; sie wurden dann später Verfechter dieser Ansichten und theilten Versuche mit, die, dank der bei ihrer Ausführung beobachteten Genauigkeit, zu wichtigen Schlüssen führten, die von den Verfechtern des Gedankens eines einzigen und polymorphen Parasiten angenommen wurden, zunächst allerdings mit Rückhalt.

Es folgen dann meine fünf Beobachtungen, von denen sich zwei auf Individuen beziehen, die schon an Malaria mit verschiedenem Fiebertypus litten; es folgen die weiteren Versuche Calandruccio's, diejenigen Bein's und die Baccelli's zu demselben Thema; hiermit schliesst die Reihe der experimentellen Versuche, und diese beseitigen nach unserer Meinung jeden Zweifel hinsichtlich der Auslegung von bestehenden Beziehungen zwischen den verschiedenen Malaria-Parasitenarten und den verschiedenen Fiebertypen.

Wir glauben, dass es nützlich sei, alle die Versuche, die die beiden Perioden der experimentellen Frage der Malaria umfassen, in Tabellen aufzuführen und nach der Folge der Zeiten zu classificiren.

I. Periode experimenteller Impfung mit Malariablut. (1884—1889.)

Nr.	Jahreszahl des Experiments	Autor	Individuum-Impfquelle		Injections-Art	Incubation in Tagen	Individuum-Impfling		Bemerkungen
			Parasitenformen im Blut	Fiebertypus			Parasitenformen im Blut	Fiebertypus	
1	1884	Gerhardt	—	Quotidiana	subcutan	7	—	Irregularis, dann Quotidiana	Es fehlt die Prüfung des einzuimpfenden bezw. eingeimpften Blutes u. die Blutprüfung bei den Impflingen.
2	1884	do.	—	do.	do.	12	—	Quotidiana	
3	1884	Mariotti u. Ciarocchi	verschiedene Scissionsformen, pigmentirte u. sichelförmige	Quotidiana u. Tertiana duplex	subcutan u. Venen-Inj.	—	pigmentführende Formen	—	Versuche unter der Leitung von Marchiafava und Celli.
4	1884	do.	do	Zwischentypus, Tertiana duplex, Quotidiana	Venen-Inj.	—	do.	—	Wegen d. Wiederholung der Injectionen ist es schwer, die Dauer der Incubation und den Fiebertypus zu bestimmen.
5	1884	do	Sichelformen	Quotidiana Irregularis	subcutan u. Venen-Inj.	—	Scissionsformen	—	
6	1884	do.	pigmentführende Körper, Scissionsformen, sichelförmige Körper	do.	do.	—	—	—	
7	1885	Marchiafava u. Celli	pigmentirte Formen, Sichelformen	do.	Venen-Inj.	—	—	unbedeutende Erhöhungen	
8	1886	do.		Quotidiana	do.	2-3	endoglobulare Scissionsformen	andauerndes Fieber	
9	1889	Gualdi u. Antolisei	Formen m. endogener Reproduction mit Pigmentanhäufung gegen das Centrum	Quartana (?)	do.	10	kleine lebhafte Amöben ohne Pigment, später Sichelformen	Quotidiana, Tertiana Irregularis unbestimmter Typus	Für das Individuum, das als Impfquelle diente, bestanden viele Zweifel hinsichtlich Reinheit des Falles.
10	1889	do.	do.	do. (?	do.	12	Amöben, nicht pigmentirt u. pigmentirt, klein u. gross, oder reife Formen	leicht und irregulär	
11	1889	do.	Scissionsformen	do.	do.	15	—	Quartana	Patient verliess nach der Inject. d. Hospital. Die Nachricht üb. d. Fiebertypus werden d. behandelnden Arzt verdankt. Es fehlt die Blutprüfung.

II. Periode experimenteller Impfung mit Malariablut. (1889—1892.)

Nr.	Jahreszahl des Experiments	Autor	Individuum-Impfquelle		Injections-Art	Incubation in Tagen	Individuum-Impfling		Bemerkungen
			Parasitenformen im Blut	Fiebertypus			Parasitenformen im Blut	Fiebertypus	
1	1889 Sept.	Antolisei u. Angelini	lebhafte Amöben, ohne u. mit Pigment, erwachsene Formen	Tertiana	Venen-Inj.	11	gleich den eingeimpften	Tertiana, dann Quotidian	Die Tertiana simplex wurde Tertiana duplex.
2	1889 Sept.	do.	do.	do.	do.	11	do.	Irregularis, dann Tertiana	
3	1889 Nov.	Gualdi u. Antolisei	Formen des quartanen Parasiten	Quartana	do.	12	do.	Quartana	
4	1889 Nov.	do.	Sichelformen	Irregularis	do.	13	amöboide Formen ohne Pigment, hernach Sichelformen	Irregularis	
5	1890—91	Di Mattei	die bekannten Formen des Parasiten der Quartana	Quartana	subcutan	17	gleich den eingeimpften	Quartana	
6	1890—91	do.	do.	do.	do.	11	do.	do.	
7	1890—91	do.	Sichelformen und endoglobulare, pigmentlose Hämamöben	Irregularis	do.	15	gleich den eingeimpften, zuerst Hämamöben, dann Sichelform.	Irregularis	
8	1890—91	do.	Sichelformen	do.	Venen-Inj.	16	gleich den eingeimpften	do.	Der Impfling war schon an Quartana leidend u. wurde sichelförmig mit unregelmässigem Fiebertypus.

Nr.	Jahreszahl des Experiments	Autor	Individuum-Impfquelle		Injections-Art	Incubation in Tagen	Individuum-Impfling		Bemerkungen
			Parasitenformen im Blut	Fiebertypus			Parasitenformen im Blut	Fiebertypus	
9	1890—91	Di Mattei	die Formen des Parasiten der Quartana	Quartana	Venen-Inj.	15	gleich den eingeimpften	Quartana	Impfling hatte Sichelformen im Blut u. bekam Quartana. Verschwinden der Sichelformen nach der Impfung.
10	1890—91	Calandruccio	die Parasiten der Quartana	do.	subcutan	18	do.	Quartana simplex od. triplex	Der Autor machte die Impfversuche an sich selbst.
11	1890—91	do.	Sichelformen	Irregularis	do.	15	do.	Irregularis	
12	1891	Bein	Parasiten der Tertiana	Tertiana	Venen-Inj.	10	do.	Tertiana mit quotidianem Typus	Der Autor impfte Tertiana ein und erhielt Auslösung von Quotidiana (Fall 12); darauf impfte er diese letzte ein (und zwar in den Fällen 14 und 15) und stellte jetzt Tertiana her oder Tertiana, die Quotidiana wurde. Augenscheinlich hat der Autor nicht beachtet, dass die quotidianen Fälle nur solche von Tertiana duplex waren.
13	1891	do.	do.	Tertiana mit quotidianem Typus	subcutan	12	do.	do.	
14	1891	do.	do.	do.	do.	9	do.	Tertiana, zunächst simplex, dann mit quotidianem Typus	
15	1891	do.	do.	do.	do.	9	do.	Tertiana simplex	
16	1892	Baccelli	Parasiten der Quartana	Quartana	Venen-Inj.	12	do.	Quartana	Impfquelle hatte an Tertiana gelitten und genas; später erkrankte er an Quartana.
17	1892	do.	Parasiten der Tertiana	Tertiana duplex	do.	6	do.	Tertiana duplex	Unter allen sorgfältig studirten Fällen der einzige, der ein kurzes Incubationsstadium zeigte.

Wie aus den beiden Tabellen erhellt, liegen im Ganzen 28 Versuche vor, nämlich 11, die in der ersten Periode der Unklarheiten geführt wurden und denen sehr wenig Rechnung getragen werden darf, und 17, die sehr gute Erfolge zeitigten, da sie mit aller wissenschaftlichen Strenge in der zweiten Periode geführt werden konnten.

Diese 17 Versuche, in denen wohl bestimmte Malaria-Parasitenformen, die sich in dem Blute eines mit wohlbekanntem Typus behafteten Malariakranken befanden, immer den Fiebertypus wieder reproducirten, und zwar mit dem Vorhandensein der entsprechenden Parasitenformen im Blut des Impflings, theilen sich in:

7 Fälle von Tertiana, welche im Versuchsobject als Tertiana, bald als simplex, bald als duplex, auftreten.

6 Fälle von Quartana, welche im Versuchsobject als Quartana, bald als simplex, bald als duplex, bald als triplex auftreten,

4 Fälle von unregelmässigem Fieber mit Laveran'schen Formen, die im Versuchsobject als unregelmässiges Fieber mit Laveran'schen Formen wieder auftraten.

Wir fussen auf diese Experimente — in diesen wurde Tertiana wieder Tertiana und blieb es für lange Zeit, ohne sich je in einen andern Grundtypus zu verändern; in diesen wurden aus der Quartana und aus dem unregelmässigen Fieber (durch Laveran'sche Formen) wieder Quartana und unregelmässiges Fieber und blieben dies auch lange Zeit hindurch, und zwar immer mit dem beständigen Vorhandensein der resp. Parasiten — und wir glauben, dass der systematische Gedanke Laveran's[1]) von einem einzigen Parasiten, der in reiner Entwickelung polymorph wird, nicht mehr Geltung haben kann. Und das um so mehr, wenn man beachtet, dass die von mir beobachteten Fälle, diejenigen Calandruccio's, diejenigen Grassi's und Feletti's beständig und aufmerksam lange Zeit hindurch, Monate und Jahre, verfolgt wurden.

1) Laveran. »Le Parasite est unique mais son évolution est variable.« Du paludisme et de son hematozoaire. Paris, Masson 1891.

Gegenüber den von mir berichteten Fällen — in diesen wurde in dem einen Falle einem Malaria-Patienten mit Quartana-Infection Blut mit Sichelformen, das einem an unregelmässigem Fieber Leidenden entzogen war, eingeimpft, und der Impfling hörte auf, den quartanen Typus zu zeigen, die Formen der Quartana in reinem Blut schwanden, es traten die eingeimpften Sichelformen auf und der entsprechende Fiebertypus; in dem andern Falle wurde einem Patienten, der sichelförmige Parasiten im Blut führte, Blut eines an Quartana Kranken eingeimpft, und bei dem Impfling wich das unregelmässige Fieber und die Sichelformen schwanden aus dem Blut, während er jetzt von Fieber mit quartanem Typus befallen wurde und auch in reinem Blut den entsprechenden Parasiten aufwies; — gegenüber diesen von mir berichteten Fällen glauben wir mit Recht, dass man nicht mehr von einer Einheit der Malaria-Parasiten, von einer Umgestaltung oder Wandlung einer Form in eine andere sprechen kann, da die vorgenannten Fälle die vollkommene Unabhängigkeit der einzelnen Formen voneinander beweisen.

So lange, wie auch Mannaberg[1]) glaubt, keine klaren Fälle vorliegen, die zeigen, dass eine Tertiana mit ihren resp. Parasiten eine Quartana geworden oder umgekehrt, glauben wir, dass die Frage von der Wandlung einer Form in eine andere schweigen muss, da sie ungerechtfertigt, ohne Beleg bleiben würde. Und nach dem, was wir von unseren Versuchen gemischter Infectionen und von denen Bein's sprechend, gesagt haben, glauben wir nicht, dass Laveran[2]) ferner noch stichhaltige Argumente und starke Versuche hat, um seine Behauptung zu beweisen, dass »chez un même individu, on voit souvent le tipe de la fièvre se modifier«.

Auch können wir mit ihm nicht übereinstimmen, wenn er in seiner Beweisführung, die den Gedanken des Polyphormismus stützen soll, sagt, »dass die morphologischen Eigenschaften, die zwei, drei oder fünf Arten von Hämatozoen zugeschrieben werden, die Erkenntnis einer jeden dieser Arten in ihren verschiedenen

1) **Mannaberg.** l. c.

2) **Laveran.** Paludisme, Paris 1892, Masson.

Entwickelungsphasen zu begründen nicht ausreichend seien.« Auch erscheint es zudem, dass die Argumente Celli's und seiner Schule hinsichtlich der Meinung von dem Polymorphismus des Parasiten Raum für begründete Einwände geben.

Bei den drei von Celli und Marchiafava berichteten Fällen, in denen sich die Sommer-Herbst-Fieber während des Winters in Tertiana mit dem Parasiten der Tertiana umgestalteten, kann eine Neuinfection nicht als ausgeschlossen gelten, da die Kranken das Hospital verliessen und wahrscheinlich in Orte gegangen sind, wo sie sich von Neuem inficiren konnten.[1])

Uebrigens gibt auch die Klinik ihren wichtigen Beitrag für manche Fragen und sie hat hinsichtlich der Malaria-Frage bereits ganz klare Gesetze aufgestellt.

Es hat nun der bewährte Lehrer Trousseau[2]) ausgesprochen, dass der Fiebertypus sich mehr nach der Natur des Miasma zu richten scheint oder, besser gesagt, mehr nach der Gegend, die die Infection herbeiführt als nach den dem einzelnen betroffenen Individuum eigenen Conditionen; im Widerspruch zu dem was andererseits Plehn glaubt[3]), dass die individuelle Veranlagung der Kranken und die Reaction der im Organismus vorhandenen Zellen einen Einfluss auf den Fiebertypus haben.

Aber noch hat man keinerlei Kenntnis hinsichtlich der Thatsache, dass der menschliche Organismus die Morphologie und die Biologie eines Parasiten wandeln kann.

Uns scheint vielmehr, dass es nunmehr Laveran[4]) und seinen Anhängern übrig bleibt zu zeigen, um eben den Beweis für die Einheit des Parasiten und seine polymorphe Entwickelung und für die individuelle Veranlagung, von der Plehn spricht,

---

1) Celli und Marchiafava. Il reporto del sangue nelle febbri malariche invernali. Bull. dell Acad. Med. di Roma. Annal. XVI, 1889—90. — Sulle febbri malariche predominanti nell' estate e nell' autunno in Roma.

2) Trousseau. Clinique médical. 7e edit., Vol. III.

3) Plehn. Beitrag zur Lehre von der Malaria-Infection. Zeitschrift für Hygiene, Bd. VII. Zur Aetiologie der Malaria. Berl. klin. Wochenschr., 1890. Aetiologische und klinische Malariastudien, Berlin 1890, s. Hirschwald.

4) Laveran, l. c. Des Hematozoaires du paludisme. Annales de l'Institut Pasteur, 1887.

zu geben, wie und warum sie in einigen Malariaorten immer hervorspringende Malariaformen finden, die einen beständigen Fiebertypus annehmen und für eine längere Zeit immer dieselben bleiben, während wir in anderen Orten Malaria-Parasiten finden, welche sehr schwere und unregelmässige Fieber verursachen; thatsächlich wurden zu Gebbia Liberto, einer Ortschaft in der Nähe von Fiumefreddo (Sicilien), alle Malariakranken von Fieber mit quartanem Typus befallen (Calandruccio); zu Wien leiden in jeder Jahreszeit alle Malariakranken an Tertiana und Quartana, aber niemals an Fieber mit Halbmondformen (Mannaberg), während in der Umgebung Wiens andererseits sehr häufig und in grosser Anzahl Fälle von sehr schwerer Malaria mit Halbmondformen vorkommen und vornehmlich solche, die aus Dalmatien und aus der Herzegowina stammen (Mannaberg); zu Tours bemerkt man nur Fälle von Terzana; zu Saumur, das doch gleichfalls am linken Ufer der Loire gelegen ist, herrscht ausschliesslich Quartana und die Fälle von Quartana, die in Tours beobachtet wurden, stammen aus Saumur, und die Fälle von Tertiana, die zu Saumur constatirt werden konnten, haben ihren Ursprung in Tours (Trousseau[1]) und so geht es fort für andere Ortschaften.

Das lässt naturgemäss auf eine verschiedene Vertheilung der Malaria-Parasiten schliessen, wie Grassi und Feletti für die Parasiten der Frösche es auch beobachtet haben; doch mit dem Hinweis auf den Polymorphismus würde es vollständig unerklärt bleiben, wie ein Parasit, der in Dalmatien, in Italien polymorph ist, dies zu Wien nicht sein sollte, sondern sich dort nur immer in einer und derselben Gestalt zeigt (Mannaberg).

Wir können zugeben, bis zu einem gewissen Punkte, dass die kosmisch-tellurischen Verhältnisse, das Klima, die Jahreszeiten, Feuchtigkeit und Temperatur mehr oder weniger die Ausbreitung dieser oder jener andern Species oder Varietät unterstützen können,

1) Trousseau erzählt, dass einst 14 Soldaten von Saumur nach Tours marschirten und nach einigen Tagen 9 derselben, alle an Malaria mit quartanem Typus, erkrankten. Sie hatten sich das Fieber zu Saumur geholt und wurden zu Tours geheilt, wo gerade damals Tertiana herrschte. (Clinique Médic. l. c.).

wie auch ein Nährboden selbst oder eine bestimmte Gegend einen Einfluss auf die Ausbreitung dieser oder jener andern Mikroorganismen-Species ausüben kann; aber in allen diesen Momenten erblicken wir nur Argumente, die mehr den Gedanken von der Vielheit und der Verschiedenheit der einzelnen Species voneinander als den von der Einheit der Parasiten unterstützen: wir erblicken Argumente, die, während sie sich mit der Verschiedenheit der Species erklären lassen, doch wenig zu dem Polymorphismus eines einheitlichen Parasiten passen. — Auch ist ja schon ein Beweis die Thatsache, dass gleichzeitig mit den Sommer-Herbst-Fiebern auch Fälle von sogenanntem Frühlings-Fieber auftreten.

Wir sehen beim Studium der Malaria-Parasiten, dass jede Form ihren Kreislauf für sich hat, dass sie entsteht, wächst, sich vervielfältigt, dass die unterschiedlichen Merkmale zwischen den einzelnen Arten nicht weniger bemerkenswerth sind als die zwischen vielen Amöbenarten und bemerkenswerther als die zwischen den verschiedenen Bacterienarten; wir sehen, dass diese Parasiten, auch von der biologischen Seite aus betrachtet, z. B. gegen einige Arzneimittel ein durchaus verschiedenes Verhalten haben: wir wissen, dass in dem weiten Gebiet der Bacteriologie Individuen vorkommen, die morphologisch zunächst nicht voneinander zu scheiden sind, die aber nachher durchaus voneinander verschieden sind, und dass hier Arten vorkommen, deren Form nur einen ganz geringen specifischen Werth hat, die sich vielmehr allein durch ihre biologischen Eigenschaften unterscheiden: wir müssen schliesslich bedenken, dass der Monomorphismus in der Natur die Regel ist, der Polymorphismus die Ausnahme — und da sehen wir keinen Grund, warum man diese Argumente übergehen sollte, die im Widerspruch zu einer philogenetischen Theorie stehen, die sich in das Gebiet von sehr hypothetischen Discussionen erstrecken würde [1]).

---

1) Wir wollen auf die Arbeit Grassi's und Feletti's und die nicht weniger wichtige Mannaberg's, beide hier erwähnt, diejenigen verweisen, welche den Wunsch haben, ausführlicher und in einer Art, die bei den vorliegenden Versuchen nicht angebracht war, die Frage, ob Polymorphismus und Einheit oder Vielheit der Malaria-Parasiten, behandelt zu sehen.

Wir nun, gestützt auf unsere Versuche und die der andern, bestätigen, was wir zum Theil schon in der vorbereitenden Schrift vom Jahre 1891 vorgeführt hatten, und was, wie wir sehen, neuerdings auch Mannaberg zur Basis seiner ausgedehnten, mit grosser Sorgfalt und grosser kritischer Schärfe geführten Beobachtungen genommen hat, und theilen die gleichzeitigen Ansichten Grassi's und Feletti's etc.; wir sind somit der Ansicht:

Dass die Malaria-Parasiten sich in verschiedene Species scheiden, obwohl in einigen Stadien sich dieselben in morphologischer Hinsicht nähern; dass jede Species für sich einen eigenen biologischen Kreis hat; und dass niemals eine Art übergeht oder sich wandelt in eine andere.

Dass zwischen den verschiedenen Arten der Malaria-Parasiten und den Fiebertypen ein unverwischbares Abhängigkeits-Verhältnis besteht, da die einen als Ursache, die andern als Effect anzusehen sind; dass sich somit auch ein Fiebertypus nicht in einen andern wandelt, da er ja doch von einer Parasitenart, die für sich besteht, verursacht wird.

Dass bei den Malaria-Fieber-Formen, wo ein Grundtypus fehlt, man oft, mit so zu sagen unreinen Fällen, mit Mischfällen rechnen muss, mit Individuen, deren Organismus zur gleichen Zeit von verschiedenen Arten von Malaria-Parasiten durchdrungen ist.

Zweiter Theil.

Ueber experimentelle Malaria-Infection an Thieren und Blutparasiten der Vögel.

I.

Wenn man die Aetiologie einer ansteckenden Krankheit studiren will, so muss man, wie man weiss, unter anderem mittels des pathogenischen, für specifisch erachteten, isolirten und in verschiedener Weise cultivirten Agens oder mit Hülfe von dasselbe enthaltenden, von aussen oder aus dem Körper des kranken Menschen stammenden Stoffen, in den Thieren und unter bestimmten Bedingungen auch in Menschen einen Krankheitszug mit Symptomen und anatomischen Läsionen, die der Infection selbst charakteristisch sind, wiedererzeugen.

Wie dies nun geschehen ist bei jener Reihe von Infectionskrankheiten, welche die Wissenschaft endgültig entschieden hat, so gleicher Weise, aber nicht mit demselben Erfolg geschah es bei der Malaria-Infection, wo trotz zahlreicher Versuche der Ausgang bei den Thieren nicht ermuthigend gewesen ist.

Freilich stand dies weiteren Studien nicht im Wege und konnte die fieberhafte Arbeit bei Aufsuchung der Aetiologie besagter Infection nicht aufhalten, da nun einmal die experimentale Pathologie und die menschliche Erfahrung erhärtet hat, dass einige Thiergattungen von Krankheiten, denen andere ausgesetzt sind, nicht befallen werden, und dass viele Infectionen des Menschen bei den Thieren und umgekehrt nicht spontan vorkommen.

Die experimentellen Veränderungen, welche die bestrittene Frage der Malaria-Infection bei Thierversuchen begleitet haben, sind von nicht geringer Wichtigkeit gewesen; und in einem Werke, wie dem vorliegenden, das sich speciell mit diesem Gegenstand beschäftigt, dürfte es wohl am Platze sein, wenigstens an die hervorragendsten, in verschiedenen Zeitabschnitten, unter dem Einfluss des jedesmaligen wirklichen Standes der Kenntnisse angestellten Untersuchungen zu erinnern.

Auf die Studien von Salisbury[1]) und Balestra[2]), welche mit den von ihnen beschriebenen Algen, der Palmella und der Alga filamentosa keine Versuche machten, die Intermittens der Thiere durch Einführung genannter Algen in deren Organismus hervorzurufen, folgen diejenigen von Lanzi und Terrigi[3]), die sich durch sechs Jahre hinzogen. In Folge dieser Studien, während deren die Monilia pennicillata, eben erst von ihnen entdeckt, ihren Posten dem vegetalen Leichenproduct überliess, führten die Autoren eine Reihe von Thierversuchen aus. Sie brachten Hunden intravenose und hypodermische Injectionen mit dem Schlamm von Ostia bei, hatten aber nur ein

1) Salisbury. The american Journal of the Med. Scient., 1866.

2) Balestra. Arch. di Med. Chirurg. ed Igiene a Roma, 1869. Ricerche ed experimenti sulla natura e genesi del miasma palustre. Roma 1877.

3) Lanzi e Terrigi. Il miasma palustre e il clima di Roma. Accad. Med. Roma 1886.

negatives Resultat, während andere Experimente von hypodermischen mit demselben Schlamm, aber an Meerschweinchen vorgenommenen Injectionen und noch andere, wo man Meerschweinchen in Atmosphären versetzte, wo sie die Ausdünstungen des vorberegten Schlammes einathmeten, den Tod der Thiere ergaben. Und so folgerten die Autoren aus der schwarzen Pigmentation der Milz, wie sie dieselbe bei den genannten Thieren beobachtet hatten, und hin und wieder aus der Erhöhung der Temperatur, ihnen sei es zuerst gelungen, auf dem Wege des Experiments die Malaria-Infection in den Thieren zu erzeugen.

Um dieselbe Zeit stellten auch Antonio Selmi[1]) und Franchi[2]) bei Meerschweinchen und Kaninchen Versuche an, indem sie den Miasma-Virus auf verschiedene Weise an sumpfigen Orten sammelten, hypodermisch einimpften und Temperaturveränderungen mit Merkmalen von Fieberanfällen erlangten, die sie für Malariafieber hielten.

Das Jahr darauf gab Griffini[3]) für die entstehende Frage seinen Beitrag an Versuchen durch Einimpfungen von in Sümpfen und auf Reisfeldern gesammeltem Thau in Kaninchen und Hunden. Dieser Thau, der eine unendliche Menge von Bacterien enthielt, in einer Menge von 75 bis 100 ccm in die Venen der Hunde eingespritzt, brachte schnelle, vorübergehende Temperaturerhöhungen von keiner Bedeutung hervor, bei den Kaninchen hingegen den Tod bald mit Zu-, bald mit Abnahme der Temperatur, aber ohne charakteristische Läsionen in den innern Organen.

Im Jahre 1879 jedoch änderte sich die Adresse der Experimental-Untersuchungen vollständig in Folge der Studien von Klebs und Tommasi-Crudeli[4]), welche, in dem Glauben, sie hätten gezeigt, wie die Aetiologie der Malaria-Infection einem von ihnen an sumpfigen Orten aufgefundenen Bacillus gebühre,

1) Selmi Antonio. Relazione sulla Malaria al Congresso di Firenze 1869.

2) Selmi e Franchi. Riso e Risaje. Lezioni di chimica agraria ed igiene rurale, Milano 1875.

3) Griffini. Esperienze ed osservazione sulla Rugiada dei luoghi miasmatici. Bollet. Crittog. Milano 1874.

4) Klebs e Tommasi-Crudeli Studi sulla natura della Malaria, Lincei 1879.

mit ansteckenden Stoffen der Pontinischen Sümpfe, mit dem Schlamm von Caprolace, den Züchtungen des in genanntem Schlamm und in der Luft von Ninfa und Fogliano angetroffenen Bacillus, sumpfigen Terrains des Agro romano u. s. w. eine lange Reihe gehörig ausgearbeiteter Versuche einrichteten. Die an den Kaninchen gemachten Versuche riefen in diesen Thieren wahre Anfälle von Fieber und derartige anatomisch-pathologische Läsionen hervor, dass sich die vorbenannten Autoren zu der Annahme veranlasst sahen, man könne in den Thieren die Malaria-Infectionen künstlich erzeugen und zwar in denselben Formen, wie sie in der Pathologie des Menschen bekannt sind, und diese künstlich hervorgerufenen Malaria-Affectionen würden von Organismen hervorgebracht, die sich in dem Boden malarischer Terrains finden.

Zur Bekräftigung obiger Untersuchungen kamen zu rechter Zeit die Experimente von Marchiafava und Cuboni[1]), welche die Frage studirten, ob die Malaria-Infection mittels Malariablutes vom Menschen auf die Thiere übertragbar wäre. Die Versuche wurden hauptsächlich an Hunden vollzogen. Die Einführung des Blutes von Malariakranken in den Organismus der Thiere geschah mit Injectionen defribinirten Blutes auf dem subcutanen Weg, durch Transfusion in das Darmfell und Injectionen in die Luftröhre. Sie fanden die Injectionen unter der Haut bei Hunden unwirksam, hielten aber die anderen, mit deren Hülfe sie Fieberaccesse erlangten, für wirksam. So erachteten sie vermöge dieser zweiten Versuche die Uebertragung der Malaria-Infectionen vom Menschen auf das Thier vermittels des Blutes, wo sie beständig die Anwesenheit des specifischen Agens bekräftigt hatten, für wahrscheinlich.

In Folge der obengenannten Studien und wegen des berühmten Namens der Autoren herrschte ein grosser Streit.

In der That, ohne Rechnung abzulegen über die neuen Untersuchungen von Antonio Selmi[2]), womit er seine alten

1) Marchiafava e Cuboni. Nuovi studi sulla natura della Malaria. Accad. Lincei 1880—81.

2) Selmi Antonio. La malaria e miasma palustre. Civita vecchia 1882.

Untersuchungen, die übrigens ebensowenig wie jene irgend welchen ernsten Grund hatten, obgleich sie ausschliesslich die Bekämpfung der Entdeckung des Bacillus und der mit ihm erzielten Resultate bezweckten, zu erhärten beabsichtigte, erinnern wir nur daran, dass die vorerwähnten Versuche von Vielen, aber mit entgegengesetzten Resultaten wiederholt wurden.

De Renzi[1]) in Genua unternahm viele Experimente an Hunden, Kaninchen und Meerschweinchen und erhielt, indem er auf verschiedene Weise (Luftröhre, unter der Haut, Peritonealhöhle) Malariablut, das einem Individuum in der Periode des Fieberschauers entnommen war, überimpfte, in Kaninchen und Meerschweinchen eine sehr leichte, kurz dauernde Temperaturzunahme von wenigem Belang, während bei Hunden dieselbe einen höheren Grad erreichte, der aber nicht lange andauerte Man kann also von wirklichen Intermittens-Anfällen nicht reden, da die Zunahme um einige Zehntel Grad auf die Wirkung des Trauma zurückzuführen ist. Eine Prüfung des Blutes fand übrigens gar nicht statt.

Orsi[2]) in Pavia erhielt bei Wiederholung der Versuche an Thieren, nämlich Hunden und Kaninchen, denen er Blut von Malariakranken, bei dessen Untersuchung er niemals auf den Bacillus stiess, injicirte, vollkommen negative Ergebnisse.

Und während andere Kliniker, wie De Giovanni in Padua und Rummo in Neapel zu denselben Resultaten wie Orsi gelangten, indem sie mit subcutanen und intraperitonealen Injectionen bei denselben Thieren im Blute dieser nie den gesuchten Bacillus constatiren, noch wirkliche Fieberaccesse bemerken konnten, — kam im Gegentheil Ceci[3]) im Laboratorium von Klebs in Prag, wo er seit dem Jahre 1880 an dem Gegenstand arbeitete, zu vollständig entgegengesetzten und den ersten von Marchiafava und Cuboni und von Klebs und Tommaso-Crudeli gleichförmigen Resultaten. Durch Injection von Gespül aus malarischen Gegenden erzielte er bei Kaninchen heftige Fieber,

1) De Renzi. Lezioni di Patologia speciale medica. Vol. III.

2) Orsi. Curiosità cliniche. Gazzetta medica Italiana. Provincia Lombarda 1881.

3) Ceci. Arch. für experim. Path. und Pharmak., 1882.

die deutlich die Form der Intermittens hatten, und gelangte auch zu denselben Resultaten, als er Gelatinezüchtungen von in Malaria-Gegenden enthaltenen Mikroorganismen injicirte. Die Läsionen der Organe und insbesondere der Milz erinnerten, dem Autor zufolge, an die typischen Läsionen der Malaria-Infection.

Silvestrini [1]) war aber nicht so glücklich wie Ceci, obschon er in seinen Untersuchungen eine fast gleiche Richtung befolgt hatte. Silvestrini prakticirte mit verschiedenen Mengen von in der Athmosphäre stark sumpfiger Orte aufgegangenem Thau bei mehreren Thieren (Hunden, Kaninchen) subcutane und peritonale Injicirungen, aber immer mit negativem Erfolg; später wiederholte er die Experimente an denselben Thieren mit Spülicht aus Malaria-Gegenden; das Ergebnis war ein mit dem ersten identisches [2]).

Im nämlichen Jahre stellte Laveran [3]) in Constantine auf Grund der Untersuchungen von Klebs, Tommasi-Crudeli und Ceci Versuche zu dem Zweck an, mittels venöser Injectionen mit den Sumpfterrains eigens bereiteter Flüssigkeiten (nach der Methode der vorgenannten Autoren) das Sumpffieber in den Kaninchen hervorzurufen. Die Injection dieser oder in Wasserbrunnen sumpfiger Localitäten gesammelter Flüssigkeiten in die Venen, rief auf leichte Weise einen Fieberanfall im Kaninchen hervor, der sich aber nicht wieder erzeugte, so dass das Thier bald wieder hergestellt war und im Fall seiner Tödtung keine Malaria-Alteration merken liess.

Ein Jahr später brachte Chassin [4]) die Experimente über den fraglichen Gegenstand wieder zur Sprache und stellte selbst vergleichende Untersuchungen mit Sumpfwasser und gewöhnlichem Wasser an. Und während er durch erstere die Ergebnisse von

---

1) Silvestrini. Sul miasma malarico. Gazetta medica Italiana, 1883.

2) Versuche von Impfungen mit Thau und Spülwasser aus Malaria-Gegenden wurden von Silvestrini auch an Menschen angestellt, jedoch mit negativem Ausgang.

3) Laveran. De la nature parasitaire de l'impaludisme. Acad. des Sciences, 1882. Traité des fièvres palustres, 1884. Paris.

4) Chassin. Sur l'inventation de la fièvre intermittente. Thèse. Paris 1885.

Laveran bestätigte, konnte er auch erhärten, dass bei Kaninchen selbst einfach mit venösen Injectionen von gewöhnlichem Wasser analoge Fieberaccese, wie die ersteren mit Sumpfwasser zum Vorschein kommen können.

Mitten in diesem Wirrwar von einander widersprechenden Resultaten erschienen einige Nachforschungen von Schiavuzzi [1]), auf die der Autor später wieder zurückkam durch Ausdehnung auch auf Thierversuche, wodurch er sie bekräftigte; aber in Folge dieser Untersuchungen machte die Frage eher Rück- als Fortschritte. Schiavuzzi isolirte in der Luft, im Wasser und in den Sumpfterrrains von Pola in Istrien, einen dem des Klebs und des Tommasi-Crudeli ähnlichen Bacillus, impfte ihn subcutan den Kaninchen ein, welche in Folge der Impfungen Anfälle von Intermittens und in den inneren Organen anatomische, nach seiner Meinung denen der Malaria ähnlichen Läsionen erlitten.[2]) Der in Gelatine gezüchtete und den Thieren injicirte Bacillus rief in diesen die erwähnten Störungen hervor. Aber diese, obschon durch die gewichtige Stimme Cohn's[3]) auf dem Congress zu Breslau gestützten Untersuchungen von Schiavuzzi fielen vollständig dahin; und es schloss die Experimental-Epoche des Malariabacillus mit den Experimenten von Golgi[4]) ab.

Dieser scharfe Beobachter hat die Behauptungen Schiavuzzi's durch Wiederholung der Experimente an Kaninchen mittels der von Schiavuzzi selbst ihm übersandten Züchtungen des angenommenen Bacillus zu bewahrheiten gesucht. Aus Golgi's Versuchen ging hervor, dass die subcutane Inoculation des beregten Bacillus nie die Intermittens im Kaninchen festsetzte. Man beobachtete in der That im Verfolg der Impfung eine leichte Temperaturzunahme, die aber an den folgenden Tagen nicht wieder

1) Schiavuzzi. Ueber Malaria im allgemeinen und insbesondere in Istrien. Vortrag, VI. Congr. Int., Wien 1887.

2) Schiavuzzi. Untersuchungen über die Malaria in Polen. München. Med. Wochenschrift 1886.

3) Cohn. Ueber die Aetiologie der Malaria. Vortrag der Schlesischen Gesellschaft für vaterl. Cultur. Breslau 1887.

4) Golgi. Interno al preteso bacillo della malaria di Klebs e Tommasi-Crudeli e Schiavuzzi. Torino 1889. Arch. per le Scienze mediche.

zum Vorschein kam und nichts mit der Malaria-Intermittens zu thun hatte, da sie im Gegentheil der im Gefolge von Injectionen von Culturen nicht pathogener Mikroben bemerkten analog war. Die Schlussfolgerung Golgi's war, dass der Bacillus Schiavuzzi's ähnlich (?) dem von Klebs und Tommasi-Crudeli mit dem eigentlichen Malaria-Agenten nichts zu thun hatte.

* * *

So endete dieser historische, äusserst widerspruchsvolle Zeitabschnitt der experimentellen Resultate von Ueberimpfung und Uebertragung der Malaria an Thieren, welcher alle anderen zur selben Zeit und in derselben Richtung gemachten Versuche mit in seinen Strudel hereinriss, und eine neue, rationellere Phase that sich für die Experimentaluntersuchung auf.

In der That, nachdem Laveran für's erste die Aufmerksamkeit der Gelehrten auf gewisse neue, von ihm im Malariablut entdeckte Parasitenformen gelenkt hatte, nachdem Marchiafava, Celli, Golgi, Guarnieri u. s. w., diese unermüdlichen, wohlverdienten italienischen Beobachter, mit fleissigen und classischen Forschungen die Morphologie dieser Parasiten aufgedeckt und so viel Licht auf die Aetiologie der Malaria-Infection geworfen, nachdem auf solche Weise der Bacillus seinen Posten den Hämosporozoarien (nach Laveran, Celli u. s. w.) oder Sarcodinen (Golgi) oder Rhizopoden (Grassi, Feletti) abgegeben, wurde die Experimentalfrage in anderer Richtung und mit grösserer Kraft wieder aufgenommen.

Es war Guarnieri [1]), der eine Reihe Impfversuche mit Malariablut mit Hämatozoarien selbst in grossen Mengen an Kaninchen und Hunden unmittelbar in die Venen oder in die Peritonealhöhle machte, aber immer mit negativem Resultat. Auch Laveran [2]) kam später zu gleichen Resultaten wie Guarnieri bei seinen Impfversuchen mit Malariablut in die Venen von

1) Guarnieri. Sull' infezione malarica. Memoria IV di Marchiafava e Celli. Arch. per le Scienze Med. Vol. XII, 8.

2) Laveran. Des Hematozoaires du Paludisme. Arch. d. méd experim. 1890.

Kaninchen. Dann versuchte er auf endovenösem Wege Malariablut auch in eine Elster zu inoculiren, aber das Ergebnis war wieder negativ, obwohl die Prüfung des Blutes des Thieres durch volle drei Monate fortgesetzt wurde.

Celli und Sanfelice[1]) setzten diese Art Experimente an 14 Thiergattungen fort, aber mit negativem Ergebnis obwohl das Malaria-Blut an Parasiten-Elementen sehr reich war. Ein Pferd[2]) und ein Maulesel wurden in die Vena jugularis geimpft, dann wurden Inoculationen auf verschiedenen Wegen an Meerschweinchen, weissen Mäusen, einem Igel, einer Fledermaus, zwei Tauben, zwei Turteltauben, zwei Eulen, vier Grünfinken, zwei Schildkröten, acht grünen Eidechsen, vier Fröschen, zwei Kröten, aber immer ohne irgend ein Resultat vorgenommen.

Fast gleichzeitig stellte Bein[3]) in Berlin gleiche Versuche an und hatte die gleichen Resultate. Er betrieb mit Blut eines Malariakranken venöse, hypodermische und peritoneale Impfungen an Hunden, Kaninchen, Meerschweinchen, Ratten, Tauben. Und nie vermochte er dabei irgend ein Krankheitsphänomen zu beobachten, das mit den ausgeführten Injectionen Verwandtschaft hatte. Diese Untersuchungen wurden auch auf Frösche mit denselben Resultaten wie die ersten ausgedehnt.

Angelini[4]) inoculirte in demselben Jahre in zwei Haustauben an Parasiten-Elementen reiches Malariablut eines Tertiana-Kranken; weiter impfte er Blut eines Quartana-Kranken in einen Windhund, aber immer mit dem negativen Erfolg des ersten Experiments.

Di Mattei[5]) injicirte in derselben Zeitperiode Malariablut eines Semilunarkranken in sechzehn Tauben, in fünf auf hypo-

1) Celli e Sanfelice. Sui parasiti del globulo rosso nell' uomo e negli animali. Annali dell' Istituto d'Igiene. Roma. Vol. I.

2) Popoff glaubt, sechs Fälle von Malaria-Fieber bei Pferden in einer sumpfigen Gegend des Kaukasus, wo die Krankheit im Menschen herrschte, beobachtet zu haben. — Arch. f. Veterinär-Medicin, 1892.

3) Bein. Aetiologische und experimentelle Beiträge zur Malaria. Charité-Annalen. Bd. XVI.

4) Angelini. Note e contributo sperimentale. Riforma Medica 1891.

5) Di Mattei. Contributo all' infezione malarica nell' uomo e negli animale. Rif. Med. 1891.

dermischem, in sieben auf endovenösem, in vier auf abdominalem Wege, aber mit negativem Ergebnis; ausserdem inoculirte er sechs Kaninchen und sechs Meerschweinchen hypodermisch und in der Abdominalhöhle, und fünf Hunde, davon zwei in der Luftröhre, zwei auf endovenösem und einen auf dem Abdominalwege, aber immer mit negativen Resultaten. Die Thiere zeigten selbst nicht einmal jene vorübergehende Fieber-Reaction, die von De Renzi bemerkt und auf die Verwundung zurückzuführen ist.

Di Mattei[1]) führte noch andere Versuche in verschiedener Zeitperiode an zwei Katzen und einem Wolfe aus. Bei einer von den Katzen wurde eine endovenöse und bei der anderen eine hypodermische Injection von 2 ccm malarischen Blutes ausgeführt. Dem Wolfe wurde eine gleiche Quantität malarischen Blutes endovenös eingespritzt. Die lange unter Beobachtung gehaltenen Thiere zeigten nie etwas Krankhaftes, nie eine fieberhafte Störung; und der Befund ihres Blutes war immer negativ.

Endlich sind auch die Resultate von Grassi und Feletti[2]) bei Untersuchungen mit Thau aus malarischen Gegenden, den man Tauben zu trinken gegeben, negativ gewesen. Diese Experimente stimmen alle in ihrem Endresultate des Widerstrebens der Thiere im Allgemeinen gegen die Infection der malarischen Hämoparasiten des Menschen überein. Unter all den Thiergattungen jedoch, welche in grosser Anzahl bei diesen Untersuchungen benützt wurden, kommt der Affe sehr sparsam vor. Und das kommt von der Schwierigkeit her, sich mit dieser Thierart zu versehen. Und doch ist der Affe ein schätzbares Reagens für gewisse menschliche Infectionen, die in den andern Hausthieren keine Wurzel fassen.

Die ersten Experimente an Affen gehören Richard[3]) an. Er inoculirte diesen Thieren auf hypodermischem und venösem Wege

1) Di Mattei. L'uffiziale sanitario. Ottobre 1894.

2) Grassi e Feletti. Contribuzione allo studio dei parasiti malarici. Acc. Vol. V.

3) Richard. Communication sur les parasites de l'impaludisme. Ac. des Sciences, 1882.

Malariablut, konnte aber an ihnen keine nachfolgende Fieberaufregung bemerken.

Fischer[1]), von Kiel, brachte auf dem Wiener internationalen Congress für Hygiene und Demographie im Bericht über seine klinischen und experimentellen Studien über diesen Gegenstand zwei Experimente an Affen vor. Er inoculirte zweien von diesen Thieren Blut eines Malariakranken im Moment des Fieberaccesses und hielt sie einige Zeit unter Beobachtung, konnte aber keine Spur von Krankheit bei ihnen bemerken.

Bein[2]) hatte auch Gelegenheit, Blut eines an Tertiana kranken Individuums auf einen Affen zu inoculiren. Zum Unglück starb das Thier einige Tage nach der Injection durch zufällige Umstände, immerhin war aber während der Tage, wo es am Leben blieb, der Befund des Blutes des Thieres ein negativer, und kein Krankheitssymptom liess sich an die an ihm geschehene Injection anknüpfen.

Angelini[3]) hatte auch die günstige Gelegenheit, in der Medizinischen Klinik von Rom ein Experiment an einem jungen kräftigen Affen von der Species Cynocephalus Sphynx vorzunehmen. In die linke Achselvene des Thieres injicirte er 2 ccm Blut eines Malariakranken. 26 Tage lang konnte man nichts Bemerkenswerthes wahrnehmen; die wiederholt angestellte Untersuchung des Blutes ergab stets negativen Befund: keine Fieberstörung. Man machte dem Thiere eine zweite, endovenöse Inoculation von an Parasitenelementen reichem Malariablut, aber auch dieses Mal war das Resultat vollständig negativ.

Di Mattei[4]) hatte auch die Gelegenheit, malarisches Blut endovenös in einen Affen zu inoculiren, der der Unterfamilie der Catarrhinen, Geschlecht Macacus, angehörte. Aber das Resultat der 2 Monate langen Beobachtung war negativ in Bezug auf die Untersuchung der injicirten parasitischen Formen und in Bezug auf die Temperatur.

1) Fischer. Internationaler Congress für Hygiene und Demographie.
2) Bein, a. a. O.
3) Angelini. La refrattarietà della scimie. Rif. Med. a. a. O.
4) Di Mattei, a. a. O.

Diese Untersuchungen, deren Ergebnis constant bleibt und durch welche auch das Widerstreben einiger Affenarten gegen die malarischen Hämoparasiten des Menschen bewiesen wird, entkräften die Behauptung von Pfeiffer[1]), der, ohne es zu beweisen, die Reproduction von Malaria-Parasiten in Affen vermittelst Transfusion von Malariablut in sie annimmt. So bezeichnet, wenn es auch noch erübrigt, auf viele andere Thierarten die erwähnten Untersuchungen auszudehnen, doch das Widerstreben der Affen einen grossen Schritt zu dem allgemeinen Gesetz des Widerstrebens der Thiere überhaupt gegen die Malaria-Infection.

II.

Auf diesem Punkte stand die Frage der Malaria-Experimente bei den Thieren und schien wenigstens wegen der Uebereinstimmung der erlangten Ergebnisse schon abgeschlossen, da sollten die Studien Danilewsky's über vergleichende Parasitologie des Blutes und insbesondere die bedeutenden über das Blut der Vögel so zu sagen diesen Gegenstand revolutioniren und ihn unter einer verschiedenen Adresse und unter einem neuen, wichtigen Gesichtspunkte wieder dem Studium übergeben. Nachdem Danilewsky[2]) zunächst die Entdeckung des Vorhandenseins einiger Parasiten im Blute der Vögel angezeigt hatte, nachdem er ihre Entwickelung und verschiedene Phasen verfolgt hatte, obwohl er zuerst etwas unsicher darüber war, identificirte er sie schliesslich mit den Malaria-Parasiten des Menschen. Aber diese bedeutsame Schlussfolge konnte sicherlich so für's Erste ohne Bekräftigung von Seiten anderer Untersuchungen angenommen werden, um so mehr, als Danilewsky beim Eingehen in die Einzelheiten auch

1) Pfeiffer. Vergleichende Untersuchungen über Schwarmsporen u. s. w. Fort. d. Med. 1890.

2) Danilewsky. Zur Frage über die Identität der pathogenen Blutparasiten des Menschen u. s w. Centralbl. für med. Wissenschaft. 1886. — Nouvelles recherches sur les parasites du sang des oiseaux. 1889. Khartsoff. — Recherches sur les Hematozoaires des tortues. Khartsoff 1889. — Sur les microbes de l'infection malarique aigue et chronique chez les oiseaux et chez l'homme. Annales de l'Institut Pasteur, 1890. — Etude de la microbiose malarique. Annales de l'Institut Pasteur, 1891.

bei den Vögeln eine Malaria in acuter und chronischer Form zuliess, indem er die Parasiten der einen und der anderen Form mit denen der acuten und chronischen Malaria des Menschen für eins erklärte.

Es war natürlich, dass durch diese Schlüsse sich ein neues Feld für Beobachtung, Untersuchung, Experiment eröffnete. In Folge der von Danilewsky verkündigten Identität zwischen den Parasiten der Vögel und den malarischen des Menschen, mussten die experimentellen Untersuchungen, von denen wir Anfangs gesprochen haben, einigermaassen erschüttert werden, oder man musste zum wenigsten das allgemeine Gesetz des Widerstrebens der Thiere gegen natürliche und experimentelle Malaria-Infection von dem Augenblick an beschränken, wo einige Species von ihnen, d. h. die Vögel, auf natürliche Weise von sich aus angesteckt werden konnten.

Desshalb wurde das Studium der sog. Malaria-Parasiten nach den Untersuchungen von Danilewsky binnen kurzer Zeit reichlich von tüchtigen Experimentatoren (Celli und Sanfelice, Grassi und Feletti, Pfeiffer, Kruse, u. s. w.) beackert; doch kann man wohl sagen, dass sie nicht zu einer wahrhaften Uebereinstimmung in den Resultaten gekommen sind.

Und in Wahrheit, während sie im Grossen und Ganzen in der Hauptsache einig waren, nämlich keine wahre Identität im Sinne Danilewsky's, sondern höchstens eine Verwandtschaft zwischen den Blut-Parasiten der Vögel und den Malaria-Parasiten des Menschen, so entstanden doch Meinungsverschiedenheiten, als es sich darum handelte, die inneren Beziehungen zwischen ersteren und letzteren genau zu bestimmen, und besonders, als es hiess, ihre Classification im Verhältnis zur Morphologie, zu ihrer Entwickelung, ihrem Cyclus zu systematisiren. — Ich kann mich nicht weitläufig damit beschäftigen und über Details betreffs der Controverspunkte der Autoren verbreiten, welche dieses Studium mit so grosser Liebe und Glück betreiben, ich habe mich ja nur in beschränkter Weise mit diesem Theile vergleichender Hämoparasitologie abgegeben und auch nur in Hinsicht auf meine allgemeinen Studien über Malaria-Infection in Thierversuchen.

Jedoch will ich nur zu dem Zweck der grösseren Rechtfertigung meiner Untersuchungen Andeutungen machen, da, wo zu ihrer besseren Beleuchtung etwas, was auch die Morphologie angeht, angepasst ist; denn das ist sicher, dass diese von sich aus in dem weiten Gebiete der Pathologie der Infectionen nicht alles zu erhärten im Stande ist.

Danilewsky äusserte zwar die Ansicht, dass die Hämatozoarien der Vögel pathogenische, denen des Menschen ähnliche Parasiten sind, und erachtete in Folge seiner Beobachtungen sich zu der Bekräftigung dieser Identität in jeder zoologischen und pathologischen Beziehung ermächtigt, fühlte sich aber dann nicht klar und ungetrübt genug in seinen Behauptungen, da er nun einmal, um diese Frage besser und vollständig aufzuklären, glaubte es wären Experimental-Untersuchungen von Inoculation des Blutes eines inficirten Vogels auf einen gesunden und später noch andere nöthig, um die künstliche Infection am Menschen mit den Blutparasiten der Vögel und die Infection an den Vögeln mit den Parasiten des Blutes eines Malaria-Kranken zu versuchen. Wirklich meldet er im Verein mit Tchouewsky eine erste Reihenfolge von Experimenten über die künstliche Infection gesunder Vögel mit dem Blute von kranken Vögeln an; es scheint mir aber nach dem Befunde meiner Untersuchungen, dass er bis jetzt auch solche nicht zu führen vermocht hat, weil er sie noch nicht öffentlich bekannt gegeben.

Aber die Wichtigkeit solcher Experimental-Frage war sofort von den übrigen Beobachtern anerkannt worden, und in Italien suchte man wirklich fast zu gleicher Zeit von Seite der Forscher bei verschiedener Richtung in der Untersuchung das Argument zu vertiefen, um doch zu diesem und jenem Schluss in der Sache zu kommen.

Aber auch hier waren die Resultate nicht übereinstimmend, obgleich nur wenige Forscher solche Experimente angestellt haben.

Celli und Sanfelice[1]) waren die ersten mit Herausgabe der Ergebnisse ihrer Untersuchungen. Die mehr wegen der Species

1) Celli e Sanfelice, a. a. O.

von Thieren, welche sie inoculirten, als wegen der inoculirten Individuen derselben Species zahlreichen Experimente führten die Autoren, in Folge einiger positiven Ergebnissen der Impfung zu dem Schluss, dass die Parasiten des rothen Blutkörperchens der Vögel vermittelst Uebertragung des inficirten Thierblutes sich in gesunden Thieren derselben Species und Varietät wieder erzeugen.

Die Autoren sagen, dass bei Tauben die inoculirten hämoparasitischen Formen in 3 von 6 Thieren nach 2—4 Incubationstagen reproducirt worden sind. Sie erklären die negativen Resultate bei den andern drei Tauben als eine Immunität, welche diese Thiere, sei es bei natürlicher oder künstlicher Infection, geniessen können. Vollständig negative Ergebnisse erlangten dann die Autoren weiter bei der Inoculation inficirten Blutes von Varietät auf Varietät, von Species auf Species, von Classe auf Classe.

Andere diesbezügliche Experimente gibt es nicht, wenn man die von mir und jene von Grassi und Feletti ausnimmt. Von den meinigen [1]) will ich jedoch zuletzt reden, obschon sie alle in der nämlichen Zeitperiode wie die der ersteren Autoren gemacht und fast gleichzeitig mit ihnen veröffentlicht sind. Kurz darauf erschienen auch diejenigen von Laveran. [2]) Er inoculirte im Ganzen 17 Tauben auf verschiedenen Wegen mit Blut von inficirten Tauben. Unter 10 auf venösem Wege inoculirten konnte er nur bei zweien drei Tage nach der Injection die Gegenwart dieses oder jenes äusserst seltenen endoglobularen Blutparasiten, der aber nach jenem Tage verschwand, bemerken; bei den 8 anderen war die Prüfung negativ so gut, wie bei allen übrigen Thieren. — Dann inficirte er gesunde Lerchen mit dem Blute inficirter Lerchen und sagt, er habe nur ein positives Ergebniss [3]) erreicht. Wirklich starb nur eine von den inoculirten Lerchen elf Tage nach der Injection, indem sie im Blut eine Invasion von Parasiten zeigte.

1) Di Mattei, a. a. O.

2) Laveran. Des hematozoaires voisins des ceux du paludisme observé chez les oiseaux. Bullet. de la Société de Biol., 1890, Paris.

3) Laveran. Des hematozoaires de l'alouette voisins de ceux du paludisme. Société de Biol. Mai 1891, Paris.

Wenn auf der einen Seite Danilewsky mit diesen isolirten Experimenten Laveran's[1]) Beweise zur Verstärkung seines Glaubens an die vollkommene Identität der Parasiten und zur Rechtfertigung seiner Ueberzeugung von ihrer pathogenen Kraft, kurz, wenn er seine Vermuthungen über die Lösung der künstlichen Infection im positiven Sinne bestärkt sieht, so findet Laveran auf der anderen Seite trotz seiner positiven Ergebnisse durchaus keine Gründe, welche die Ansichten von Danilewsky zu stützen vermögen.

Und er kommt in der That zu dem vollkommen entgegengesetzten Schluss, dass nämlich »die Analogie der Hämatozoarien der Vögel mit denen des Paludismus evident ist, diese Analogie aber durchaus nicht die Identität implicirt; dass vom morphologischen Gesichtspunkt aus man schon Verschiedenheiten hervorheben kann; dass aber, was vor Allem diese Parasiten trennt, der Umstand ist, dass die pathogene und febrigene Wirksamkeit der Hämatozoarien der Vögel durchaus nicht bewiesen ist«.[2])

Und fast ebenso lautet die Schlussfolgerung von Celli und Sanfelice[3]), welche mit allen ihren für positiv gehaltenen Resultaten von Inoculation sich nicht ermächtigt fühlen, die Identität zwischen den einen und den anderen Hämatozoarien fest zu bestimmen und sich nur darauf beschränken, zuzulassen, dass zwischen Vogel und Mensch die Verhältnisse so innig werden, dass man in den parasitischen Formen mit langsamer, beschleunigterer und schneller Entwickelung das Entsprechende in den malarischen Formen von Quartana, Tertiana und Quotidiana des Menschen erkennen kann.

Grassi und Feletti stellten, wie gesagt, gleichzeitig mit mir und früher als Laveran einige Versuche an, beschränkten sie aber auf die künstliche Infection. Sie impften auf 24 gesunde Tauben Blut von inficirten Tauben, aber ihre Ergebnisse waren vollständig negativ.

---

1) Laveran. Des hematozoaires des oiseaux. Société de Biol., Nov. 1891.

2) Laveran. Paludisme. Masson. 1892, Paris.

3) Celli e Sanfelice, a. a. O.

Die Einwände jedoch, welche sie, die Autoren, den Collegen in Rom gegenüber machen, und die ich meinerseits noch auf Laveran ausdehne, sind, wie wir später sehen werden, geeignet, den Werth jener für positiv gehaltenen Resultate zu erschüttern und zwar so sehr, dass man fordern muss zum wenigsten, es möchte das Argument der künstlichen Infection genauer vertieft werden.

Meine Experimente kamen daher zu rechter Zeit.

Doch muss ich sagen, dass es, als ich nach den Arbeiten Danilewsky's meine Untersuchungen betreffs des Gegenstandes begann, mir nicht schien, sie sollten sich nur auf das Factum der künstlichen Infection begrenzen, wie meine Collegen thaten, um die zoologische und pathologische Identität der Blutparasiten der Vögel mit jenen malarischen Parasiten des Menschen zu beweisen oder zu verneinen; sondern erachtete dagegen, die den Experimenten zu gebende Richtung müsste auf breitere Criterien gegründet werden, und hielt es für besonders gerechtfertigt, auf das Studium der Blutparasiten der Vögel alles zu appliciren, was das Experiment für jene des Menschen zur Kenntnis gebracht hat. So konnten die Schlussfolgerungen über die Beziehungen zwischen diesen verschiedenen Hämatozoarien besser definirt werden.

Auf diese Weise habe ich zwei Reihen von Experimenten angestellt.

In einer ersten Reihe habe ich den Versuch gemacht, auszuführen

a) eine systematische Untersuchung über die Temperatur der normalen (gesunden) Vögel und der mit Blutparasiten inficirten (kranken) Vögel, zu dem Zweck, um zu sehen, wie diese in den beiden Gesundheitszuständen der Thiere sich verhalte;

b) ein Studium über die Action einiger (specifischer oder für die Malaria-Infection des Menschen höchst nützlicher) auf verschiedenen Wegen bei den inficirten Thieren dargereichter Heilmittel;

c) eine Probe von Experimenten von Blutinoculation inficirter Vögel in gesunde für das Studium der künstlichen Infection.

Mit diesen Daten an der Hand hielt ich es für angezeigt, um besser zu der verwickelten Frage beizutragen und die ersten Untersuchungen zur Geltung zu bringen, eine zweite Reihe von Experimenten vorzunehmen, um zu studiren;

a) den Einfluss der verschiedenen gesunden und malarischen Localitäten bei der natürlichen Infection der Thiere;

b) die Möglichkeit der Infection durch Zusammenleben gesunder Vögel mit inficirten;

c) den Einfluss der Erblichkeit;

d) die Folgen der Inoculation von Blut eines malarischen Individuums auf die gesunden Vögel und von Blut inficirter Vögel auf gesunde Menschen.

Inzwischen halte ich für nöthig, von jetzt an zu betonen, und zwar gilt dies für alle Versuche, dass die von mir zu diesen Untersuchungen gewählten Thiere, Tauben und zwar Haustauben und ihre respectiven Jungen, von uns »piccioni« genannt, ein bei uns für diese Untersuchungen sehr bequemes Material gewesen sind. Es ist mir ausserdem daran gelegen, vorauszuschicken, dass die Prüfung der gesunden Tauben täglich durch eine lange Periode von Tagen hindurch (15—20—30) wiederholt wurde, bevor sie für solche erklärt wurden, denn aus meinen Beobachtungen und aus jenen Grassi's und Feletti's geht hervor, dass viele Tauben mehrere Tage lang einen negativen Befund an Parasiten in ihrem Blut dem Anschein nach zeigen oder sehr seltene parasitäre Formen enthalten können, dass sie der Beobachtung eines oder mehrerer Präparate entgehen können, um dann später bei den Prüfungen an den folgenden Tagen wirkliche parasitärische Invasionen und Vermehrungen sehen zu lassen.

Die Taube ist ein für solche parasitäre Invasionen des Blutes empfängliches Thier und wenn sie auch gesund ist, muss man sie an unverdächtigen Orten halten und bei der Beobachtung immer die Prüfung des Blutes controlliren, um ganz sicher zu sein, dass sie sich nicht später angesteckt habe, und dass man es wirklich mit einer nicht inficirten Taube zu thun habe. Und das ist auch die Ansicht, zu der Grassi und Feletti bei ihren Untersuchungen gelangen und, zu der auch Danilewsky

kam, welcher sich in dieser Beziehung so ausdrückt: »Manchmal kann man ein zeitweiliges Verschwinden der Hämatozoen constatiren, aber nach einer mehr oder minder langen Periode erscheinen diese Parasiten von neuem und auch in grösserer Menge als früher. Es ist von Wichtigkeit, zu bemerken, dass dieses Wiedererscheinen ohne eine neue Infection und während des Aufenthaltes des Vogels im Laboratorium vor sich geht.«

Und ich selbst muss in diesem Betracht die Aufmerksamkeit darauf lenken, dass ich während der ersten Reihe der angestellten Experimente zwei im Centrum der Stadt und an durchaus nicht verdächigten Orten gekaufte Täubchen gehabt habe. Bei diesen Thieren zeigte sich das Examen des Blutes mehrere Tage lang negativ. Als ich dann Tags darauf das eine von ihnen auf endovenösem Wege inoculirte, erwies es sich als inficirt; nachdem ich mich aber wieder zur Beobachtung des andern als Controle belassenen Täubchens wandte, zeigte es sich auch inficirt. Das liess natürlich vermuthen, dass beide Täubchen von Parasiten inficirt waren und dass an jenen Tagen der Beobachtung und des Experiments ihr Blut zeitweise davon frei war.

I. Reihe.

a) Temperatur.

Systematische Beobachtungen über die Temperatur inficirter Tauben oder anderer Vögel kenne ich nicht. Danilewsky beschäftigt sich nicht damit in besonderer Weise. Er sagt in sehr unbestimmten Worten, dass die Temperatur der Vögel (Elster, Eule etc.) während des Cyclus des Parasiten in ihrem Blut sehr erhöht und die Entkapselung des Polimitus (forma flagellata) immer mit einer niedrigeren Temperatur verbunden ist. Indem er dann weiter von einer chronischen Infectionsform der Vögel spricht, drückt er sich mit den Worten aus, dass die Temperatur der mit dieser Infectionsform behafteten Thiere derjenigen der gesunden Vögel ähnlich sei, während bei der anderen, der acuten Infectionsform (die nach ihm der Tertiana und Quartana des Menschen entspricht), die Temperatur sich mässig von 1° bis zu 1,5° erhebt, und dass endlich die Schwankungen der Temperatur bei den

Vögeln mit dem Stande ihres Hämocrobismus in Verbindung stehen. Schliesslich fügt er hinzu, dass die Temperatur der von ihm studirten Vögel zwischen 41,5° und 42,5° schwankte, und dass eine Temperatur von 43° ihn schon einen Krankheitszustand voraussetzen liess.

Für die inficirten Tauben sind keine Beobachtungen da.

In meinem Fall wurde bei den Tauben die Temperatur immer mit Thermometern gemessen, deren Genauigkeit uns wohl bekannt war; die Kugel wurde immer gleich tief in der Kloake eingelassen. Ich halte diese Einzelheiten nicht für unnütz, weil es bei den Thieren, insonderheit bei den Tauben, nicht gleichgiltig ist, zu sehen, wie sich die Temperatur je nach der verschiedenen Tiefe des Thermometerknopfes im Mastdarm verhält.

Die Temperatur während der Periode unserer Beobachtungen wurde im Ganzen bei 16 inficirten Tauben dreimal täglich gemessen und methodisch auch in ebenso vielen gesunden zur Controle.

Das Examen des Blutes der inficirten Tauben liess die glänzenden halbmondförmigen Formen in ihrem ganzen Entwickelungskreislauf beobachten. Gemäss Grassi und Feletti[1]) ist das Haustäubchen der Provinz von Catania nur einer Species von malarischen Parasiten unterworfen, nämlich der semilunaren Form Laverania-Danilewsky. Das sind parasitische Elemente, die in den ersten Phasen ihrer Entwickelung eine mehr oder minder runde Form haben, um dann eine ovale und später jene von wahren Halbmonden anzunehmen. Sie haben alle einen ovalen schönen Kern. Die jugendlichen Formen sind fast immer pigmentfrei, die entwickelteren haben ein bald unregelmässig verbreitetes, bald gegen die Pole hin, bald im Centrum zu einem einzigen Haufen concentrirtes Pigment; einige Formen sind innerhalb des rothen Blutkörperchens, andere gehören eng zum Kern, indem der Rest des rothen Blutkörperchens schon verschwunden ist; andere Formen sind frei im Plasma; der Fall ist nicht selten, im selben Blutkörperchen sogar zwei sichelförmige Gestaltungen zu erblicken, die sich hohl gegenüberstehen.

1) Grassi und Feletti, a. a. O.

Die so inficirten Tauben bieten anscheinend keine Störungen dar, dass man sie von den nicht inficirten Tauben hätte unterscheiden können, noch haben sie eine lange Zeit hindurch, wo wir sie in Beobachtung gehalten haben, Krankheitszeichen an den Tag gelegt. Einmal starb zwar eine von diesen Tauben, aber in diesem Falle konnten nicht andere zufällige Ursachen vollständig ausgeschlossen werden. Die post mortem angestellte Probe des Blutes dieser Taube zeigte eine grosse Menge parasitischer, pigmentirter Formen, eine grössere als die beim Leben constatirten Gebilde.

Bringen wir nun die zu verschiedener Zeit gemachten Beobachtungen mit dem Thermometer. (S. Tab. auf S. 258 u. 259.)

Wie man aus der Tabelle sieht, zeigt die Temperatur keine bemerkenswerthe Differenz zwischen den inficirten und gesunden Tauben. Die Temperaturoscillationen in den Morgen- und Abendstunden bei den gesunden Tauben sind denen der inficirten Tauben fast gleich. Ja, wenn etwas hervorgehoben werden muss, so ist es, dass bei den inficirten Tauben die Temperatur immer um einige Zehntel niedriger war, als die der gesunden. In der That steigt sie bei den gesunden Tauben sehr oft am Morgen von 42,5° auf 43°, während diese Ziffern fast nie von den inficirten erreicht worden sind. In den Abendstunden fällt bei beiden Reihen Tauben die Temperatur respective um einige Zehntel unter die des Tages.

Also, Resultat meiner Beobachtungen ist der Grundsatz: Die inficirten Tauben bieten thatsächlich keine Erhöhung, sondern eher eine sehr leichte Erniedrigung der Temperatur dar.

Nach vielen anderen Beobachtungen, die er gemacht, bestätigt Lassar, dass die Vögel im allgemeinen nie einem Phänomen von Ueberhitzung (hyperthermia) unterworfen sind und dass sie im gesunden Zustande Schwankungen von mehreren Zehnteln bis zu einem Grade darbieten können. Und indem er von den Tauben spricht, betrachtet Chossat, in Folge von 600 Beobachtungen mit dem Thermometer mehrere Wochen lang, diese Oscillationen als gleichbleibend; er findet eben durchschnittlich eine Temperatur von 42,2° am Tag (Mittag) und 41,5°

Temperatur.

Gesunde Tauben.

Monatstag	Taube I		Taube II		Taube III		Taube IV	
	Morgs.	Abends	Morgs.	Abends	Morgs.	Abends	Morgs.	Abends
Jan.								
1.	42°	42°	42,2°	41,5°	43°	42,1°		
2.	42,5°	42°			43,1°	42°		
3.	43°	42,3°	43°	42,8°	42,8°	42,7°		
4.			42,8°	42,1°				
5.	42,8°	42,5°			42,7°	42°	42,1°	42°
7.	42,2°	42,1°			42,1°	42°	42,6°	42,2°
9.	43°	42,5°	42,9°	42,1°	42,6°	42°		
11.	42,8°	42,1°	42,5°	42,5°			42,6°	42,1°
13.							42,8°	41,9°
15.			42,9°	42,5°			42,2°	42°
März	Taube V		Taube VI		Taube VII		Taube VIII	
10.	41,8°	42°	42,9°	42,7°			42,2°	42,1°
11.	42,1°	42°	43°	42,7°			42,4°	42,3°
12.	42,5°	42,2°	42,8°	42,5°	42,1°	42,1°		
13.					43°	42,7°	42,4°	42,2°
14.			42,3°	42,3°	42,8°	42,5°	42,3°	42,1°
15.			42,5°	42,3°				
17.					43°	42,7°		
19.	42,2°	42,1°			42,7°	42,1°		
21.	41,9°	42°			42,5°	42,2°		

Inficirte Tauben.

Monatstag	Taube I		Taube II		Taube III		Taube IV	
	Morgs.	Abends	Morgs.	Abends	Morgs.	Abends	Morgs.	Abends
Jan.								
1.	42,1°	42°			42,1°	42°	42°	41,8°
2.	41,9°	42°	42,5°	41,7°			42,2°	41,9°
3.	42°	41,9°	42,3°	41,7°	42°	41,5°		
4.					41,9°	41,5°	41,9°	41,5°
5.	42,1°	42°	42,2°	41,9°	42,2°	41,5°	42,5°	42°
7.	41,8°	41,4°	41,9°	42°	42,2°	41,9°	41,8°	41,6°
9.			42,1°	42°	42,3°	42°	42°	41,8°
11.	42,1°	41,9°			42°	42°		
13.	42,2°	41,7°	42,1°	41,9°	42,4°	42°	42,1°	41,8°
15.			42,1°	41,8°				
März	Taube V		Taube VI		Taube VII		Taube VIII	
10.	42,1°	42°			41,5°	41,5°		
11.	42,2°	42°			41,7°	41,5°		
12.	42,3°	42,1°	42°	42°				
13.			42,2°	42°	41,5°	41,4°	41,8°	41,6°
14.	42°	41,9°			41,8°	41,7°	42°	41,9°
15.			42,2°	41,9°	41,9°	41,7°	41,9°	41,8°
17.			42,2°	42°	41,8°	41,4°		
19.			42,5°	42,2°	42,1°	42°	42,8°	42,1°
21.	41,9°	42°	42,2°	41,9°	42,3°	42°	42°	41,8°

Temperatur.

Gesunde Tauben.

Monatstag	Taube V Morgs.	Taube V Abends	Taube VI Morgs.	Taube VI Abends	Taube VII Morgs.	Taube VII Abends	Taube VIII Morgs.	Taube VIII Abends
März								
23.	42,5°	42,1°	42,7°	42,5°			42,4°	42,2°
25.			43°	42,7°				
28.							42,5°	42,3°
Mai	Taube IX		Taube X		Taube XI		Taube XII	
1.	42,6°	42,5°					42,6°	42,3°
2.	43°	42,7°			42,8°	42,6°	42,4°	42,5°
3.	42,7°	42,5°			42,5°	42,3°	42,7°	42,4°
4.					42,6°	42,4°		
5.					42,5°	42,5°		
6.					42,5°	42,6°		
8.								
10.			42,2°	42°			41,9°	41,9°
12.			42,3°	42°				
14.			42,2°	42,1°			43°	42,7°
16.	42,6°		42,5°	42,2°			42,8°	42,6°
18.	42,5°		43°	42,7°				
20.	42,7°							

Inficirte Tauben.

Monatstag	Taube V Morgs.	Taube V Abends	Taube VI Morgs.	Taube VI Abends	Taube VII Morgs.	Taube VII Abends	Taube VIII Morgs.	Taube VIII Abends
März								
23.	41,8°	41,6°					41,9°	41,7°
26.	41,7°	41,5°						
28.								
Mai	Taube IX		Taube X		Taube XI		Taube XII	
1.	42,1°	42°	41,9°	41,7°			42°	41,8°
2.	42°	42°	42°	42°			42,1°	41,9°
3.			41,9°	41,7°	42,2°	42,2°		
4.	42,6°	42°	41,7°	41,7°	42,2°	42°	41,9°	41,6°
5.	42,5°	42°			42°	41,9°		
6.	42,3°	42°						
8.			41,7°	41,6°	41,9°	41,7°		
10.	42,3°	41,9°	42°	41,8°			42,2°	41,9°
12.							42,5°	42°
14	42°				42°	41,9°		
16.	42,3°		42°	42°	42,3°	42°	42°	41,8°
18.					42,3°	42°		
20.								

am Abend (Mitternacht). Diese Temperaturschwankungen bei den Tauben bringen Corin und Van Beneden bis auf 2 Grade, indem sie als Grenzen die Ziffern 41,5° und 43,5° zulassen.

Ohne deshalb eine Schätzung über die Temperaturerhöhungen zu machen, wie sie Danilewsky bemerkt hat, der in seinen Untersuchungen die Vögel nur, weil ihre durchschnittlich von 41,5° bis 42,5° schwankende Temperatur manchmal auf 42,8° bis 43° stieg, als fieberkrank betrachtet, sind wir geneigt, den kleinen bei den beiden von uns studirten Reihen Tauben beobachteten Temperaturverschiedenheiten keine Wichtigkeit beizulegen, und behaupten daher, dass die parasitische Infection des Blutes in diesen Thieren keine Störung hervorbringt, die sich mit Temperaturerhöhungen erheben liesse.

b) Therapeutische Versuche.

In dieser Richtung haben nur Celli und Sanfelice[1]) Untersuchungen angestellt. Diese Autoren erprobten an den inficirten Tauben die Action einiger Heilmittel wie Chinin, Antipyrin, Arsenikflüssigkeit, Phosphorsäure, Sodacarbonat. Mit den vorbenannten Mitteln, Chinin ausgenommen, erlangten sie negative Resultate. Bei dem Chinin fanden sie dagegen, dass es, wie für die Plasmodien der Malaria, die Bewegungen der Hämatozoarien lähme, ohne jedoch auf diese eine tiefere deletärische Wirkung auszuüben. Die Experimente ermangeln der Details und sind an einer kleineren Zahl Tauben gemacht worden.

Gleichzeitig mit jenen Untersuchungen stellte ich meine an, indem ich sie auf zwei pharmaceutische Präparate beschränkte, welche eine so wirksame Thätigkeit bei der Malaria-Infection darthun, nämlich Chinin und Arsenik, und auf ein anderes, wegen seiner Kraft, die Mikroben zu tödten, so vorzügliches Salz, nämlich Sublimat.

Vom Chinin habe ich das Bisulfat gewählt als solches, welches sich wegen seiner Löslichkeit am besten zum Versuch eignet. Ein Gramm wurde in 100 ccm sterilisirten Wassers aufgelöst, so dass jeder Cubikcentimeter der Lösung 1 ctgr des Salzes enthielt.

1) a. a. O.

Dann wurde es eingespritzt in einer Dosis von 1/4, 1/2 bis zu 1, 1 1/2 ccm und auf den verschiedenen Wegen, dem hypodermen, venosen und abdominalen.

Vom Arsenik habe ich zuerst Arseniksäure gebraucht, nach der schwachen Formel von Buchner, hergestellt aus 1 g Arseniksäure in 2000 g Wasser, so dass 1 ccm dieser Lösung ein halbes Miligramm Arseniksäure enthielt. Davon wurde in immer wachsender Dosis ein Zehntel Cubikcentimeter bis zu einem halben Cubikcentimeter eingespritzt. Doch war es immer eine starke Lösung und wurde übel ausgehalten, und man konnte für mehrere Tage nicht fortfahren. Man zog vor, 1 ccm der vorgenannten (ein halbes Milligramm Arseniksäure enthaltenden) Lösung in 100 ccm Wasser zu verdünnen; so machte man eine schwache Lösung, welche zu mehreren Cubikcentimetern eingespritzt, längere Zeit hindurch vom Thiere wohl gelitten wurde. — Vom Sublimat habe ich dann verschiedene Lösungen gemacht; ich habe mit einer Lösung zu 1 ‰0 angefangen, so dass 1 ccm Lösung 0,0001 g des Salzes enthielt und bin bis zu einer Lösung von 1 pro 5000 gestiegen, so dass 1 ccm Lösung 0,0005 g des Salzes enthielt. Dem Thiere wurde von 1 Zehntel bis zu 1 ccm bald von der einen, bald von der anderen Lösung eingespritzt. Um ein annäherndes Kriterium zu haben, ob die parasitären Formen in Folge der Behandlung abnähmen oder sich einigermassen modificirten, hielt man Controlthiere mit gleichem Blutbefund und machte Präparate zu verschiedenen Tagesstunden, indem man respective die Nummer der Hämatozoarien in jedem Felde des Mikroskops und die Veränderungen ihrer Formen zählte.

Leider wissen wir, dass die dargelegten Kriterien sehr relativ sind, aber andererseits mussten wir uns bei einem an sich sehr veränderlichen Blutbefund mit annähernden Daten und Controlen begnügen.

1. Chinin.

Meine Experimente mit diesem Salz sind die zahlreichsten, als demjenigen, welches grössere Aufmerksamkeit verdiente in Bezug auf den Gegenstand, der uns beschäftigt.

Die Experimente sind 5 auf subcutanem, 3 auf endovenösem, 4 auf endoabdominalem Wege. Ich werde sie kurz melden, um so mehr als die Ergebnisse gleichförmig sind.

Hypodermer Weg.

Versuch I.

Taube. Blut mit ovalen, sichelförmigen, pigmentirten, endoglobulären und freien Formen. Erhält $^1/_2$ ccm der Lösung. Nach 1—2 Stunden keine Modification in den hämoparasitären Formen. Am folgenden Morgen halten sich die parasitären Formen gerade so; es wird ein anderer $^1/_2$ ccm der Lösung eingespritzt. Am dritten Tag gleicher mikroskopischer Befund wie am vorhergehenden; es wird 1 ccm der Lösung eingespritzt. Am vierten Tag analoger Befund wie am vorhergehenden: Injection von 1 ccm. Am fünften Tag keine anscheinende Aenderung in den parasitären Formen: Injection am Morgen 1 ccm und am Abend 2 ccm. Am sechsten Tag analoger Befund: Injection am Morgen $2^1/_2$ ccm und Abend $2^1/_2$ ccm. Am siebenten Tage fand man die Taube todt. Der mikroskopische Befund des Blutes lässt die ovalen Formen spärlich, die gewöhnlichen freien halbmondförmigen und endoglobulären Formen bemerken, einige kaum sichtbar innerhalb der Globuli, die zusammengeschrumpft sind, viele Pigmentkörner frei im Plasma, die auf Veränderungen in Folge des Todes sich zurückführen lassen.

Versuch II.

Taube. Blut mit eher runden und ovalen Formen im Vorwalten, wenig halbmondförmige, endoglobulare, einige seltene frei. Man wendet eine tägliche Injection von 1 ccm der Lösung 10 Tage hindurch an. Das Thier wird todt aufgefunden. Die ganze Beobachtungszeit lang sieht man die parasitischen Formen wenig verändert, die halbmondförmigen kommen selten vor, die Zahl der ovalen und runden Formen scheint vermindert. Es scheint nicht, dass sie Alterationen in den Formen erlitten haben.

Versuch III.

Taube. Blut mit endoglobularischen, kleinen, runden, verlängerten, wie eine Acht erwürgten Formen. Injection von $1^1/_2$ ccm Lösung. Nach Verlauf einiger Stunden keine bemerkenswerthe Aenderung in den hämoparasitischen Gebilden. Am folgenden Morgen ist der Befund ganz derselbe; man spritzt andere $1^1/_2$ ccm Lösung ein. Am dritten und vierten Tag werden keine Injectionen gemacht und dieselben Formen wie den Tag vorher vorgefunden. Den fünften Tag Injection von anderen 2 ccm, Blutbefund analog dem früheren. Am sechsten Tag keine Injicirung, die Probe des Blutes lässt eine Vermehrung von ovalen Formen in den Vordergrund treten. Am siebenten Tag, nach Injection von anderen 2 ccm, zeigt die Taube deutliche Zeichen von Leiden. Die Prüfung des Blutes zeigt ovale, mehr länglich gewordene, am Centrum enghalsige Formen. Das Thier stirbt in der Nacht. Am Morgen darauf wird das mikroskopische Examen angestellt, und es werden viele zerstörte und im Plasma freie Formen bemerkt.

Versuch IV.

Taube. Blut mit hauptsächlich halbmondförmigen Gebilden. Injection von 2 ccm. Der Befund zwei Stunden nach derselben: keine Modification der beobachteten Formen. Tags darauf Injection von 2 ccm; der Befund ist dem vorausgegangenen gleich. Den dritten Tag ist die Taube leidend. Andere 2 ccm werden eingespritzt; in keiner Hinsicht der Blutbefund modificirt weder in der Zahl noch in der Form der Parasiten. Am vierten Tag wird das Thier todt gefunden. Hämoparasitischer Befund, ähnlich den vorhergegangenen.

Versuch V.

Taube. Blut mit vornehmlich semilunaren Formen. Injicirung eines halben ccm Lösung 5 Tage lang; Blutbefund ähnlich dem vor der Injection Dann Injection von 1 ccm für weitere 6 Tage. Der Blutbefund bleibt sich immer gleich. Endlich Injection von 1½ ccm für weitere 5 Tage. Die Halbmonde haben sich im Grossen und Ganzen nicht verändert; mancher aber zeigt sich mehr angeschwollen, mehr transparent.

Endovenöser Weg.

Versuch VI.

Taube Blut mit parasitärer Invasion in allen Stadien: runde, ovale, halbmondgleiche, endoglobulare und freie Formen. Injection von 1 ccm Lösung in die vena superficialis des rechten Flügels. Nach 2, 6, 24 Stunden keine nennenswerthe Veränderung im Blutbefund. Nach 36 Stunden wird 1 ccm in die Vene des linken Flügels eingespritzt. Blutbefund nach einigen Stunden seit der Einlassung analog dem vorhergehenden. Zwei auf einander folgende Tage lang wird das Thier in Ruhe gelassen. Am fünften Tage wird es todt aufgefunden in Folge von mit der Injection nichts zu thun habenden Ursachen. Im Blutbefund nichts Neues.

Versuch VII.

Taube. Blut vornehmlich mit halbmondigen, endoglobulären Formen mit und ohne Pigment; wenige, eirunde Formen. Injection von 2 ccm Lösung in die Vene des Flügels. Der Blutbefund nach einigen Stunden lässt keine Veränderung in den beobachteten Formen sehen. Am Morgen darauf eine weitere Injection von 2 ccm in die andere Vene. Das Thier stirbt nach 6 Stunden. Bei der Prüfung des Blutes sieht man viele halbmondige Formen, frei im Plasma, viele Pigmentkörnchen, viele entstellte ovale Formen; die Halbmonde hatten ihre netten, saubern Umrisse und waren ein wenig dunkel mit entstellten Rändern.

Versuch VIII.

Taube. Blut mit runden, kleinen, ovalen, endoglobularen Formen. Es wird eine Injection von 1 ccm in die Vene des rechten Flügels gemacht. Beim Befund nach 2, 4, 6 Stunden keine Modification der parasitischen Formen des Blutes. Am nächsten Morgen Injection von 1 ccm in die Vene des anderen Flügels. Nach 1, 3, 5 Stunden ist die Beobachtung des Blutes analog der vorhergegangenen. 3 Tage lang wird das Thier in Ruhe gelassen:

in dieser Zeit bietet das Blut nichts Anormales dar. In dieselbe Vene des rechten Flügels wird die Injection von 1 ccm wiederholt. Der Blutbefund lässt eine leichte Vermehrung der ovalen Formen bemerken. Nach weiteren 5 Tagen, während deren die tägliche Beobachtung keine bemerkenswerthen Veränderungen der parasitischen Formen hervorheben liess, wurde 1 ccm in die schon gebrauchte Vene des linken Flügels eingespritzt. Nach weiteren 3 Tagen augenscheinlichere Verringerung der parasitären runden, kleinen Formen und auch bezügliche Verminderung der eirunden Formen.

Endoperitonealer Weg.

Versuch IX.

Taube. Blut mit vornehmlich halbmondigen, freien und endoglobulären Formen mit und ohne Pigment, mit wenigen, eirunden Formen. Es wird täglich 3 Tage lang $^1/_2$ ccm injicirt. Der Blutbefund 2, 4, 6 und 24 Stunden nach der Injection ist demjenigen vor den Injectionen analog. Weitere 3 Tage hindurch Injection von 1 ccm. Der Blutbefund zeigt sich in nichts verändert.

Versuch X.

Taube. Blut mit parasitarischen Formen in allen Entwickelungsphasen. Injection von 1 ccm Lösung. Nach 1, 2, 4, 6 Stunden keine Veränderungen der parasitarischen Formen. Am zweiten Tag neue Injection von 1 ccm. Der Blutbefund zeigt sich dem ersten analog. 2 Tage lang wird das Thier in Ruhe gelassen. Am fünften Tag dritte Injection von 1 ccm. Der Blutbefund zeigt sich unverändert. Am siebenten Tage vierte Injection von 1 ccm. Beim Blutbefunde wird eine Verminderung der runden Formen bemerkt. Am neunten Tage fünfte Injection von 1 ccm; immer sichtbarere Verringernng der Formen. Am zwölften Tage nur semilunare Formen und in kleiner Menge · man bringt eine sechste Injection von 1 ccm. Weitere 10 Tage, während deren immer mit Ueberschlagen je eines Tages 5 andere Injectionen vor genommen wurden, jede von 1 ccm, modificirte sich der Blutbefund nicht.

Versuch XI.

Taube. Blut mit parasitären Formen in allen Entwickelungsphasen. Injection von 2 ccm Lösung. Blutbefund nach 2, 4, 8, 12, 24 Stunden immer derselbe wie jener vor der Injection. Am folgenden Tage neue Injection von weiteren 2 ccm. Am dritten Tage dritte Injection von 2 ccm. Im Blute dieselben parasitären Formen, ohne Veränderung und ohne Verringerung. Das Thier wird am 4. Tage todt aufgefunden. Der Blutbefund zeigt nichts Bemerkenswerthes.

Versuch XII.

Taube. Blut mit sehr wenigen runden und kleinen, ovalen Formen. Injection von 1 ccm Lösung. Nach 2, 6, 16 Stunden Blutbefuud ähnlich dem vor der Injection. Am zweiten Tage zweite Injection von 1 ccm. Der Blutbefund analog dem früheren. Am dritten Tage werden $1^1/_2$ ccm eingespritzt. Die ovalen Formen zeigen sich mehr gewachsen. Am fünften Tage vierte Inoculation von $1^1/_2$ ccm. Blutbefund immer gleichmässig. Am siebenten

Tage fünfte Inoculation von $1^1/_2$ ccm. Beim Blutbefund sind die runden Formen sehr selten geworden, auch in geringer Anzahl die ovalen Formen. Am zehnten Tage eine letzte Injection von 2 ccm. Der Blutbefund zeigt nur die ovalen Formen.

2. Arsenik.

Dem Arsenik widerstehen die Tauben wenig. Meine Versuche sind auch nicht zahlreich. Sie beschränken sich auf drei für die Via digestiva, drei für die Via subcutanea, zwei für Via endovenosa, zwei für Via abdominalis.

Via digestiva.

Versuch I.

Taube. Blut vornehmlich mit halbmondigen Formen, aber nicht gross an Zahl. In den Mund wird $^1/_2$ ccm der starken Lösung eingelassen. Am Morgen darauf ist der Blutbefund durchaus nicht modificirt: es wird nun 1 ccm der genannten Lösung durch den Mund eingelassen. Am dritten Tage lassen sich im Blut die nämlichen Formen sehen: man lässt noch 1 ccm einführen. Den vierten Tag wird das Thier in Ruhe gelassen. Den fünften Tag ist der Blutbefund dem vorgehehenden analog: man lässt 1 ccm Flüssigkeit in das Thier einführen. Am sechsten Tage ist der Befund des Blutes analog. Nach Eingebung von 2 ccm Lösung starb das Thier.

Versuch II.

Taube. Blut mit kleinen runden und ovalen Formen; hie und da eine von diesen mit Pigment. Tägliche Eingebung von $^1/_2$ ccm der schwachen Lösung für 20 Tage. Die Prüfung des Blutes ist immer dieselbe für die 6 ersten Tage, dann Vorherrschen von ovalen Formen; gegen den 15. Tag Erscheinen von einigen semilunaren Formen. Das Thier lebt weiter noch 10 Tage, während deren man andere 5 ccm Lösung eingibt. Es wird todt aufgefunden, aber im Blute stösst nichts anderes auf als das Vorwalten von eirunden Formen, und zwar in spärlicher Zahl, und einige Halbmonde.

Versuch III.

Taube. Blut mit parasitärer Invasion in allen Entwickelungsstadien. Eingabe von 2 ccm der starken Lösung. Am Morgen darauf ist der Blutbefund analog dem vom Tage vorher. Das Thier nimmt andere 2 ccm Lösung ein. Am dritten Tage Eingabe von andern 2 ccm. Einige Stunden darauf wird es todt aufgefunden. Der Blutbefund lässt die runden Gebilde in sehr geringer, die ovalen in weit grösserer Zahl, dazu einige Halbmonde ersehen. Keine Veränderung in der Form der Parasiten.

Via subcutanea.

Versuch IV.

Taube. Blut mit parasitären Formen in allen Stadien. Fünf Tage lang Inoculation von 1 ccm der schwachen Lösung: keine Modification im Blutbefunde. Eine weitere tägliche Inoculation von 2 ccm 5 Tage hindurch:

der Befund des Blutes weist fortschreitende Verminderung der runden Formen auf. 2 weitere Tage lang Inoculation von 2 ccm Solution. Am 13. Tage findet sich das Thier todt. Im Blute stiess man auf viele eirunde Formen, wenige Halbmonde, hie und da einen mit viel pigmentirtem Protoplasma.

Versuch V.

Taube. Blut mit Halbmondformen. Injection von 2 ccm der starken Lösung. Das Thier zeigt sich leidend. Den Morgen darauf Injection von weiteren 3 ccm derselben. Das Thier stirbt nach 4 Stunden. Der Blutbefund zeigt sich nicht viel verändert. Die Halbmonde dem Anschein nach mit dem ein wenig körnigen Protoplasma.

Versuch VI.

Taube. Blut mit Vorwalten von semilunaren Formen. Es werden 6 ccm der starken Lösung eingespritzt. Am Abend stirbt das Thier. Die mikroskopische Blutuntersuchung, 1, 2, 3, 4 Stunden nach der Injection, liess keine bemerkenswerthe Modification in den parasitären Formen hervorheben.

Via Venosa.

Versuch VII.

Taube. Blut mit wenigen runden, kleinen Formen, hie und da eine ovale. Injection von 1 ccm der starken Solution in die Vene des rechten Flügels. Nach 2, 4, 6 Stunden keine Veränderung im Blutbefunde. Am folgenden Morgen neue Injection in die Vene des andern Flügels. Nach 2, 4 Stunden bemerkt man beim Blutbefund, dass die eirunden Formen die Homogeneität des Protoplasma verloren haben. Das Thier wird todt aufgefunden.

Versuch VIII.

Taube. Blut mit Halbmondformen. Injection von 1 ccm der schwachen Lösung (rechter Flügel). Nach 1, 2, 4, 24 Stunden erscheint der Befund des Blutes unverändert. Nach 2 Tagen Ruhe neue Injection von 1 ccm (linker Flügel). Der Blutbefund bietet keine bemerkenswerthen Modificationen dar. Am achten Tage dritte Injection von 1 ccm in den rechten Flügel. Die Halbmonde verlieren Nichts von ihrer Qualität und Form. Am 12. Tag vierte Injection ven 1 ccm in den linken Flügel. Unveränderter Blutbefund.

Via endoabdominalis.

Versuch IX.

Taube. Blut mit wenigen Halbmondformen. Injection von 1 ccm der schwachen Lösung. Keine Veränderung im Blutbefunde. Am zweiten Tage zweite Injection von 1 ccm. Befund des Blutes unverändert. Vom vierten bis zehnten Tag Injection von $^1/_2$ ccm der Lösung. Die Halbmondformen bleiben immer wenig und ungeändert.

Versuch X.

Taube. Blut mit parasitärer Invasion in allen Stadien. Injection von 5 ccm der starken Solution. Nach 1, 2 Stunden zeigt die Beobachtung des

Blutes nichts Bemerkenswerthes. Das Thier wird am Abend todt aufgefunden. Der Blutbefund zeigte sich unverändert.

3. Sublimat.

Für die Tauben ist der bessere und gut und auf lange Zeit ausgehaltene Weg der subcutane. Unsere Experimente beschränken sich auf zwei für die Via hypodermica, einen für die Via endovenosa und zwei für die Abdominalhöhle.

Via subcutanea.

Versuch I.

Taube. Blut mit wenig Halbmonden. Injection von $^1/_2$ ccm der schwachen Lösung. Beim Blutbefund nach 2, 4, 6, 24 Stunden Fortdauer der vorbesagten Formen. 8 Tage lang die Injection von $^1/_2$ ccm der gesagten Lösung fortgesetzt. Beim Blutbefund zeigen sich die Halbmonde durchaus nicht modificirt. Man fährt in dieser Behandlung bis zu 14 Tagen fort. Das Thier stirbt, und der Blutbefund erhält sich gleichmässig.

Versuch II.

Taube. Blut mit runden, kleinen und endoglobulären Formen, hie und da ovale Form. Injection von 2 ccm der schwachen Lösung. Der Blutbefund ist durchaus nicht verändert. Am zweiten Tag Injection von weiteren 2 ccm der vorgedachten Solution. Der Befund des Blutes analog dem vorausgehenden. Am dritten Tag dritte Injection von 2 ccm. Blutbefund immer ungeändert. Nach 2 Tagen Ruhe lässt die Blutprobe Vorwalten von ovalen Formen und einige pigmentirte bemerken. Es werden dann 2 ccm der starken Lösung eingespritzt. Das Thier verendet. Der Blutbefund ergibt ausser den pigmentirten ovalen Formen einige Halbmonde.

Via endovenosa.

Versuch III.

Taube. Blut mit wenigen Halbmondformen. Injection von 4 ccm der schwachen Lösung in den rechten Flügel. Nach 2, 6 Stunden stellt sich der Blutbefund nicht modificirt dar. Am dritten Tag Injection von 2 ccm der starken Lösung in den linken Flügel. Nach 1, 2, 6 Stunden ist der Blutbefund dem vorausgegangenen analog. Das Thier wird zu später Stunde todt aufgefunden.

Via endoabdominalis.

Versuch IV.

Taube. Blut mit wenigen endoglobulären, kleinen, runden Formen. Injection von 1 ccm der schwachen Solution 8 Tage hindurch. Der Blutbefund ändert sich nicht. Injection von $1^1/_2$ ccm der genannten Lösung für weitere 2 Tage. Der Blutbefund bleibt sich immer gleich. Nach 3 Ruhetagen Injection von 1 ccm. Bei dem Examen des Blutes bemerkt man ausser den

runden Formen noch ovale, hie und da eine pigmentirte. Nach 5 weiteren Ruhetagen wird ½ ccm der Lösung eingespritzt. Der Blutbefund weist ein Ueberwiegen von ovalen Formen auf. Nach abermals 3 Tagen Ruhe Injection von 1 ccm der Solution 2 Tage hindurch. Beim Blutbefund keine Modification der beobachteten Formen und Auftreten von Halbmonden.

Versuch V.

Taube. Blut mit parasitärer Invasion in allen Stadien. Injection von ½ ccm der starken Auflösung. Blutbefund unverändert. Am zweiten Tage abermals ½ ccm. Der Blutbefund derselbe. Den vierten Tag Injection von 1 ccm. Nach 2, 4, 6 Stunden ist der Befund den früheren immer analog. Am fünften Tage Injection von 2 ccm. Nach 2, 4, 6 Stunden zeigt der Blutbefund eine bemerkenswerthe Verminderung der runden und ovalen Formen. Keine Modification im Inhalt der vorhandenen parasitischen Formen. Das Thier stirbt.

Inzwischen halte ich es für nützlich, die Experimente in der folgenden Tabelle zusammen zu fassen, um die Schlüsse, zu denen die erhaltenen Ergebnisse uns kommen lassen, besser zu werthen.

Therapeutische Versuche.

Nummer des Experiments	Inoculirtes Thier	Inoculirtes Mittel	Blutbefund vor der Inoculation	Injectionsweg	Tagesdauer des Experiments	Veränderungen des Blutes nach der Injection	Ausgang des Experiments
1	Taube	Chinin	Formen: ovale, halbmondige, endoglobuläre und freie	hypoderm.	7	keine	† (todt)
2	»	»	runde, ovale, einige halbmondige	»	10	die Zahl der runden ovalen Formen scheint vermindert	†
3	»	»	runde, ovale, seltene semilunäre	»	7	viele ovale Formen	†
4	»	»	Uebergewicht von Halbmonden	»	4	keine	†
5	»	»	Uebergewicht von Halbmonden	»	15	keine	
6	»	»	runde, ovale, semilunäre	endovenöser	5	keine	†
7	»	»	Uebergewicht von halbmondigen, endoglobulären	»	2	ovale und semilunäre, deformirte Formen	†
8	»	»	runde, kleine und ovale	»	13	Verminderung der runden und ovalen Formen	
9	»	»	überwiegen von Halbmonden	abdominaler	6	keine	
10	»	»	runde, ovale, semilunäre	»	22	spärliche runde Formen	
11	»	»	runde, ovale, semilunäre	»	4	keine	†
12	»	»	spärliche runde und ovale	»	10	überwiegen ovale Formen	

Therapeutische Versuche.

Nummer des Experiments	Inoculirtes Thier	Inoculirtes Mittel	Blutbefund vor der Inoculation	Injectionsweg	Tagesdauer des Experiments	Veränderungen des Blutes nach der Injection	Ausgang des Experiments
13	Taube	Arsenik	Formen: spärliche halbmondige, sehr spärliche ovale	digestiver	6	keine	†
14	»	»	runde, ovale	»	25	ovale, einige semilunäre Formen	†
15	»	»	runde, ovale und semilunäre	»	3	keine	†
16	»	»	runde, ovale, semilunäre	subcutaner	12	ovale Formen, Halbmonde spärlich	†
17	»	»	überwiegen von Halbmonden	»	2	keine	†
18	»	»	überwiegen von Halbmonden	»	1	keine	†
19	»	»	spärliche runde und ovale	endovenöser	2	keine	†
20	»	»	semilunäre	»	12	keine	
21	»	»	spärliche semilunäre	abdominaler	10	keine	
22	»	»	runde, eirunde Halbmonde	»	1	keine	†
23	»	Sublimat	wenige semilunäre	subcutaner	14	keine	†
24	»	»	runde, seltene ovale	»	5	Vermehrung ovaler Formen	†
25	»	»	spärliche semilunäre	endovenöser	3	keine	†
26	»	»	spärliche runde	abdominaler	18	ovale, halbmondige Formen	
27	»	»	runde, ovale Halbmonde	»	5	Verminderung aller Formen	

Nachdem wir so die Resultate kurz zusammengefasst, die wir in dieser Reihe von therapeutischen Proben erhalten hatten, können wir zu einigen Betrachtungen kommen, die uns einige Schlussfolgerungen erlauben.

Bei der Richtung, welche den vorgedachten Untersuchungen gegeben wurden, hatte man zuerst Acht darauf, das Medicament dem Thiere auf den verschiedenen Wegen einzuführen, um zu sehen, ob vielleicht für einige von diesen letzteren das Medicament sich wirksamer zeigte. Bei gleicher Quantität und Dosis hat uns das Experiment belehrt, dass bezüglich der Blutparasiten der Tauben die Thätigkeit des Mittels auf den verschiedenen Wegen fast gleich ist, nur muss man einigen Vorbehalt für die auf dem venösen Wege eingegebenen Dosen machen.

Dann haben wir im Auge gehabt, das Medicament in verschiedenen Dosen, nämlich schwachen, mittelmässigen und starken, einwirken zu lassen, und diese Methode mit Gleichheit der Dosis ist immer bei der Einführung des Medicaments auf den verschiedenen Wegen beibehalten worden, um zu sehen, wie es sich im Verhältnis zu seiner Intensität in Bezug auf die Blutparasiten verhalte. Wir haben hiebei auch hinsichtlich der Taube nicht jenes sichere Kriterium ihres Gewichtes im Verhältnis zu der Quantität des einzugebenden Mittels aus dem Gesicht verloren. Wir haben so Fälle von Thieren gehabt mit raschem Tode, von mittlerer Dauer, von langer Dauer, und Fälle, wo die Thiere am Leben geblieben waren. Das Experiment hat uns gezeigt, dass die verschiedene Stärke der Dosis des Mittels keinen Einfluss auf die parasitären Formen entwickelt hat, weil die kleinen und lange fortgesetzten Gaben eine den mittleren und starken, nur für kürzere Zeit beigebrachten analoge Action gezeigt haben. Oft schien der Befund der Blutparasiten am Ende der Dauer des Experiments verschieden von dem vor der Anwendung des Medicaments gemachten. Und dies hat sich besonders in den Experimenten von mittlerer oder langer Zeitdauer beurkundet. Diese Verschiedenheiten haben jedoch nicht den geringsten Eindruck auf uns gemacht, weil sie auf die Evolutionsphasen bezüglich sind, welche der Blutparasit in seinem Lebenscyclus unabhängig von der Action jedes Mittels darbietet. Zu dieser Idee waren wir dann gebracht vom Studium über die Entwickelung dieses Hämoparasiten im Blut, nachgerade durch die Untersuchungen von Celli-Sanfelice, Grassi, Feletti u. s. w., und dann, weil die nämlichen morphologischen Variationen auch in den Controlthieren, die man mit Absicht ohne Inoculation liess, bemerkt wurden.

Wir legten bei unsern Beobachtungen Gewicht auf die innersten Modificationen des Parasiten und zwar gerade jene, welche sich auf die Form, den protoplasmatischen Gehalt, den Kern, das Pigment u. s. w. beziehen, aber derartige Veränderungen haben wir dabei nicht beobachtet.

Es ist freilich wahr, dass manchmal im Gefolge der Kur eine starke Verringerung der vorhandenen parasitären Formen

bemerkt wurde; aber auch diese Verminderung brachten wir nicht auf Rechnung der Action des Mittels; nachdem wir wissen, dass man in den Tauben jetzt eine wahre Invasion von Parasiten und später ein vollkommenes Verschwinden, unabhängig von aller Kur haben kann.

Von den angewandten Mitteln wies keines eine Specificität auf im eigentlichen Sinne des Wortes, und das eine zeigte auch keine grössere Wirksamkeit als das andere. Celli und Sanfelice, wie gesagt, die einzigen, welche Untersuchungen in diesem Betracht anstellten, erhielten freilich auch negative Resultate, durch die von ihnen gebrauchten Mittel: Arsenik, Antipyrin, Phosphorsäure, Natriumcarbonat, und unsere Resultate bestätigen hierin die ihrigen und dehnen die allgemeine Idee von der Wirkungslosigkeit vorgenannter Mittel auf die Blutparasiten der Vögel aus; jedoch sind die genannten Forscher gesonnen, einige Ausnahme bei dem Chinin zu machen, dem sie die Eigenthümlichkeit zuschreiben, die länglichen Formen rund zu machen, indem es, kurz gesagt, die Bewegungen lähmt, wie bei den wahren Hämoparasiten der Malaria des Menschen.

Ich habe nicht das Glück gehabt, das vorgenannte Phänomen zu bemerken, obschon ich viele genaue diesbezügliche Beobachtungen angestellt hatte; es kann sich aber geben, dass der Gegenstand vertieft werden muss.

So neige ich mich denn in Folge meiner Versuche und wegen der vorbemerkten Betrachtungen zu der Annahme, dass die therapeutischen Versuche mit den beobachteten Mitteln keine ordentliche Wirkung haben, merklich die Form zu verändern oder die Widerstands- und Lebenskraft der Blutparasiten der Vögel zu schwächen oder zu zerstören. Und wenn man bedenkt, dass die gebrauchten Mittel bei der Malaria-Infection des Menschen von so grossem Nutzen sind, während sie dann für die Blutparasiten der Vögel sich so unnütz zeigen, so bleibt man geneigt zu der Behauptung, dass das therapeutische Kriterium die Idee von der Einerleiheit der beiden Klassen von Hämoparasiten durchaus nicht ermuthigt.

c) Experimentelle Infectionen.

Die künstliche Malaria-Infection der Thiere ist, wie schon gesagt, specielle Präoccupation derer gewesen, die diesen Gegenstand studiren. Für Danilewsky bietet sie den Hauptversuch dar, weil er nun einmal auf Grund desselben glaubt, dass man die wahre Probe auf die pathologische Identität der beiden Arten von Hämatozoarien erhalten müsse. So habe ich denn guten Muthes eine lange Reihe Experimente angestellt, um meinen Beitrag zu der Frage zu liefern. Wie wir schon gesagt haben, sind die Beobachter, welche früher als ich über den Gegenstand etwas veröffentlicht haben, Celli und Sanfelice: gleichzeitig mit mir Grassi und Feletti, und später Laveran. Die Ergebnisse sind, wie schon angedeutet, ungleich gewesen. Grassi und Feletti werfen, um ihre negativen Resultate zu rechtfertigen, den römischen Collegen vor, dass sie bei ihren Versuchen nicht das Blut der zu inoculirenden Tauben für eine ziemliche Zahl von Tagen vor der Inoculation examinirt haben; denn die nur einige Tage lang vor und nach der Impfung angestellte Prüfung des Blutes lässt ein weites Feld für den Verdacht, dass die Infection des Thieres bei der Impfung schon bestand.

Der Einwurf ist sicherlich nicht ohne Gewicht, besonders wenn man das Factum bedenkt, dass jene Thiere, wie schon hervorgehoben ist, offenbar immun scheinen und sogar zeitweise keine Form von Parasiten im Blut zeigen können, um dann später deren in Menge zu zeigen. Laveran ist nicht einmal frei von diesen Einwürfen, sowohl für seine Experimente an Tauben wie auch an Lerchen.

Bei der Divergenz der Frage halte ich es für nützlich, die lange Reihe der von mir angestellten Versuche auseinanderzusetzen.

Meine Tauben wurden vor ihrer Gesunderklärung einer genauen Prüfung des Blutes unterworfen, die nicht unter 20 Tagen dauerte. Auch das Blut der inficirten Tauben wurde genau mehrere Tage lang geprüft, ehe es inoculirt wurde, und zwar zu dem Zweck, von den Formen, der Zahl der vorhandenen Parasiten u. s. w. Kenntnis zu nehmen. Vermittelst Pravatz'schen

oder Tursini'schen Spritze wurde aus der Achselhöhlenvene der inficirten Taube eine zum Einspritzen nöthige Menge Blut aufgesogen. Die gewählten Injectionswege sind gewesen der hypodermische an einem oder mehreren mit den gewöhnlichen Vorsichtsmassregeln präparirten Punkten des Rückens, der endovenöse in eine der Venen der Flügel oder in die Vena jugularis, die Via endoabdominalis und die Via endothoracica durch Eindringen mit der Nadel der Spritze in die Cavitas thoracica von der Rückenseite bis zur äussersten Grenze der Wirbelsäule. Durch diese Thoraxinoculation erhielt man, insonderheit bei den ersten Versuchen einige tödtliche Misserfolge bei dem Thier, die der Operationsweise zu verdanken sind. Celli und Sanfelice haben bei ihren Experimenten, anstatt mit einer Pravatz'schen Spritze das Blut unmittelbar aus den Blutgefässen zu entnehmen, um es schnell den Thieren einzuimpfen, aus gerechter Furcht vor dem raschen Gerinnen des Blutes und auch, um davon eine hinreichende Menge zu erhalten, die folgende Methode vorgezogen: Aderlass einer Vena jugularis, Aufnahme des Blutes in einem Glasrecipienten, der mit Glaskügelchen sterilisirt und dann mit ihm in einen Ofen zu 37° gehalten war; darauf minutenlanges starkes Schütteln des Blutes. Bei solchem Verfahren verbleibt auf der Oberfläche eine Flüssigkeit, ein durch rothe Parasiten mit normalen Erscheinungen enthaltende Blutkörperchen sehr stark gefärbtes Serum. Auf Grund ihrer Resultate sind die Genannten am besten im Stande zu bekräftigen, dass der möglichste Weg für die Infection die Via intrapulmonaris ist.

Darum haben wir ausser unseren Experimenten noch andere unternommen, mit Wiederholung der von den Autoren gewählten Methode und mit Befolgung auch des nämlichen Inoculationsweges, um uns in ihre identischen Bedingungen zu versetzen.

Um nicht aus dem Tagebuch des Laboratoriums die zahlreichen Untersuchungen, die uns all zu weit führen würden, herüber zu schreiben, beschränken wir uns darauf, sie in folgende Tabellen kurz zusammenzufassen. Es sind 18 auf der Via hypodermica, 35 endovenosa, 12 intrapulmonaris, 6 intraabdominalis, 12 mit der Methode Celli-Sanfelice; im Ganzen 83 Experimente.

Bei allen Thieren stellte man nach ihrer Inoculation eine strenge Prüfung des Blutes an, eine möglichst lange Zeit hindurch, wie sich übrigens besser aus den hier kurz gefassten Zusammenstellungen hervorhebt.

Experimentelle Infectionen.

I. Via hypodermica.

Zahl der Experimente	Versuchsthier	Befund des zu inoculirenden inficirten Blutes	Menge des inoculirten Blutes	Dauer der Beobachtung in Tagen	Resultat der Beobachtung
			ccm		
1	Gesunde Taube	überwiegen semilunärer Formen	2	26	negativ
2	»	do.	2	32	do.
3	»	do.	2	28	do.
4	»	do.	3	20	do.
5	»	do.	3	25	do.
6	»	do.	4	42	do.
7	»	do.	4	35	do.
8	»	nur semilunäre Formen	5	30	do.
9	»	do.	5	38	do.
10	»	do.	5	40	do.
11	»	do.	3	36	do.
12	»	do.	3	32	do.
13	»	do.	2	28	do.
14	»	do.	2	26	do.
15	»	do.	4	31	do.
16	»	runde und ovale Formen	5	38	do.
17	»	do.	4	29	do.
18	»	do.	2	26	do.

II. Via endoabdominalis.

Zahl der Experimente	Versuchsthier	Befund des zu inoculirenden inficirten Blutes	Menge des inoculirten Blutes	Dauer der Beobachtung in Tagen	Resultat der Beobachtung
1	Gesunde Taube	runde, ovale Halbmonde	3	22	negativ
2	»	do.	4	29	do.
3	»	nur runde Formen	4	35	do.
4	»	do.	5	40	do.
5	»	nur semilunäre	5	60	do.
6	»	do.	2	90	do.

III. Via endovenosa.

Zahl der Experimente	Versuchs-thier	Befund des zu inoculirenden inficirten Blutes	Menge des inoculirten Blutes	Dauer der Beobachtung in Tagen	Resultat der Beobachtung
			ccm		
1	Gesunde Taube	ovale u. semilunäre Formen	1	24	negativ
2	»	do.	1	28	do.
3	»	do.	2	26	do.
4	»	do.	2	30	do.
5	»	do.	3	45	Anwesenheit einiger Formen bis zu 28 Stunden
6	»	überwiegen v. Halbmonden	1	28	negativ
7	»	do.	1	30	do.
8	»	do.	1	32	do.
9	»	do.	1	33	do.
10	»	do.	3	42	Gegenwart weniger semilunäre Formen bis zu 24 Stunden
11	»	do.	3	36	do.
12	»	runde und ovale Formen	1	15	negativ
13	»	do.	2	8	do.
14	»	do.	2	18	do.
15	»	do.	2	34	do.
16	»	do.	3	32	Anwesenheit von Formen bis zu 2 Stunden
17	»	nur semilunäre	1	24	negativ
18	»	do.	2	25	do.
19	»	do.	3	30	do.
20	»	do.	3	28	Gegenwart von Formen bis zu 4 Stunden
21	»	do.	1	19	negativ
22	»	do.	1	40	do.
23	»	in allen Stadien	1	35	do.
24	»	do.	1	38	do.
25	»	do.	2	29	do.
26	»	do.	2	45	do.
27	»	do.	3	40	Gegenwart einiger Formen bis zu 3 Stunden
28	»	do.	1	32	negativ
29 bis 35	7 Tauben	semilunäre	3—5	v. 1 Std. bis zu 3 Tagen	todt wegen der Operationswunde

IV. Via intrapulmonalis.

1	Gesunde Taube	runde und ovale Formen	1	16	negativ
2	»	do.	5	6 Std.	todt
3	»	do.	2	24	negativ
4	»	vorwiegend semilunäre	2	20	do.

IV. Via intrapulmonalis. (Fortsetzung.)

Zahl der Experimente	Versuchsthier	Befund des zu inoculirenden inficirtes Blutes	Menge des inoculirten Blutes	Dauer der Beobachtung in Tagen	Resultat der Beobachtung
			ccm		
5	Gesunde Taube	vorwiegend semilunäre Formen	1	30	negativ
6	»	do.	1	45	do.
7	»	nur kleine runde	4	2 Std.	todt
8	»	do.	2	15	negativ
9	»	do.	1	28	do.
10	»	nur semilunäre	1	36	do.
11	»	do.	3	1 Std.	todt
12	»	do.	1	1 Std.	do.

V. Via intrapulmonalis (Methode Celli-Sanfelice).

Zahl der Experimente	Versuchsthier	Befund des zu inoculirenden inficirtes Blutes	Menge des inoculirten Blutes	Dauer der Beobachtung in Tagen	Resultat der Beobachtung
1	Gesunde Taube	nur runde, kleine Formen	1	36	negativ
2	»	do.	1	40	do.
3	»	überwiegen semilunäre	1	28	do.
4	»	do.	2	40	do.
5	»	do.	3	42	do.
6	»	do.	5	1 Std.	todt
7	»	ovale und halbmondige	1	29	negativ
8	»	do.	2	38	do.
9	»	do.	1	28	do.
10	»	in allen Stadien	2	1 Std.	todt
11	»	do.	1	36	negativ
12	»	do.	1	48	do.

Es genügt einen Blick auf die vorstehenden Tabellen zu werfen, um leicht die Schlussfolgerungen zu ziehen, zu denen die Resultate der Untersuchungen führen; jedoch muss ich einige davon (d. h. Resultate) näher beleuchten.

In der ersten und zweiten Reihe der Inoculationen auf hypodermischem und abdominalem Wege (24 Experimente) hatte ich keinen Thierverlust zu beklagen und habe für die nicht kurze Zeit, wo sie in Beobachtung standen, einen ständig negativen Befund des Blutes der gesunden inoculirten Tauben zu erhalten vermocht. Bei der dritten Reihe der endovenösen Inoculationen (35 Experimente) habe ich 7 Tauben gehabt, in deren Venen

eine nicht unbedeutende Menge (3—5 ccm) inficirtes Blut eingelassen wurde; sie starben in einem von 1, 2 Stunden bis zu 3 Tagen wechselnden Zeitabschnitt. Auf diese Todesbefunde lege ich keinen Werth, weil ich, wie ich auch richtig konnte beobachten und mich überzeugen, den Misserfolg der Operationswunde und ihren Folgen zugeschrieben habe. Dann habe ich 22 Tauben gehabt, die für einen verhältnismässig langen Zeitraum in Beobachtung gehalten wurden und in denen der Blutbefund nach der Einimpfung ständig negativ war. Es ist gut darauf hinzudeuten, dass die Prüfung erst 24 Stunden nach der Inoculation vorgenommen werden konnte. Schliesslich bleiben weitere 6 Fälle, wo man die Beobachtung unmittelbar nach geschehener Inoculation anstellen konnte. In diesen 6 Fällen war man im Stande, das Vorwalten einiger inoculirter Formen zu bemerken während einer Zeitperiode von einigen Stunden bis zu 1—2 Tagen. Diese Befunde, beinahe analog den von Laveran erhaltenen, welcher in Folge der endovenösen Inoculation bei 10 inoculirten Täubchen, in 2, auch 2—3 Tagen, einige endoglobulare, parasitäre, seltene Formen, die dann plötzlich verschwanden, constatiren konnte — müssen durchaus nicht als gelungene Fälle angesehen werden und zwar aus verschiedenen Gründen, welche sich leicht begreifen lassen und unter denen sich der befindet, dass bei einem Fall von gelungener Inoculation die genannten, schon an sich sparsamen Formen, nicht nach kurzer Zeitdauer verschwinden, sondern statt dessen eine längere Zeit beharren und ihre natürlichen Entwickelungsphasen verfolgen sollten. Sodann ist die andere Thatsache nicht weniger wichtig, dass, wenn diese Blutparasiten einmal in den Kreis eingetreten sind, sie kein Anzeichen von Incubationsperiode darbieten, wie die malarischen Hämoparasiten; und man kann dagegen an den gröberen Fall denken, dass, wenn mit der Inoculation eine enorme Menge dieser Hämoparasiten in's Blut dringt, nicht alle gleicherweise und in kürzester Zeit zerstört werden können. Uebrigens sind wir noch vollständig mit den Gründen unbekannt, weshalb die (nach den gewöhnlichen Methoden geimpften) Tauben eine Immunität bei der künstlichen Infection zeigen wegen

einer Art Parasiten, die ihnen bei der natürlichen Infection gemein sind.

Dann haben wir in der 4. Reihe von Untersuchungen auf endopulmonalem Wege 12 Experimente; wenn mir von diesen 4 Fälle vom Fehlschlagen abziehen, bleiben noch 8, deren Resultat den andern gleichförmig, d. h. negativ war.

In der 5. Reihe haben wir die 12 anderen nach der Methode von Celli und Sanfelice angestellten Experimente; von diesen, wenn wir zwei Fälle von einem Nichterfolg ausnehmen, bleiben 10 andere Fälle, bei denen das Resultat den andern gleichförmig, d. h. negativ war.

So ist denn, wenn wir alles kurz zusammenfassen, bei unseren nicht wenigen Experimenten (83) das Ergebnis immer ständig negativ gewesen. Aber mit diesem Schluss, der auf unsere 83 negativen Experimente und auf 24 auch negative von Grassi und Feletti (die zusammen vereinigt das Hundert übersteigen) sich ergibt, wollen wir nicht die weniger positiven (3 bei 6) von Celli und Sanfelice erlangten abschwächen; denn es soll durchaus nicht ausgeschlossen werden, dass unter gewissen gegebenen Bedingungen, die uns unbekannt sind und die uns für jetzt entgehen, auch die Thiere die künstliche Infection auf dem Wege der Inoculation des inficirten Blutes empfangen können. Und doch glauben wir, dass von Seite der glücklichen Autoren weitere Untersuchungen, die darauf hinzielten, den vorangedeuteten Gedanken zu erklären, gelegentlich nützlich gewesen wären, wenn nur, wohl verstanden, die neuen Experimente vor jedem Vorwurf und insonderheit vor den ihnen schon gemachten gesichert sind. Der Schluss inzwischen, den unsere Untersuchungen zu ziehen uns erlauben, ist ersichtlich genug: dass nämlich die Uebertragung der parasitären Infection auf die gesunden Tauben vermittels Inoculation von Blut inficirter Tauben, nicht erreicht wird, ist der Weg auch, worauf diese Infection versucht wird, welcher er wolle.

Dieser Schluss bringt uns auf eine Beobachtung, welche sich an die Hauptfrage von der Nicht-Identität der beiden Parasitenspecies in pathalogischer Beziehung anschliesst. Wenn es wirklich

möglich ist, bei der Malaria-Infection die Ansteckung von Individuum auf Individuum vermittelst des Blutes zu übertragen und wenn dasselbe Resultat bei den Hämoparasiten der Vögel durch Impfung des Blutes von Thier auf Thier (Taube) nicht erreicht wird, dann muss man doch zugeben, dass die Grundlage, worauf man die Idee vom pathologischen Kriterium für die gewollte Identität auferbaut, vollständig mangelt.

II. Reihe.

Die Experimente der ersten Reihe, jene der künstlichen Infection insbesondere, betreffen einseitig nur die Idee der von Danilewsky behaupteten Identität und daher kommt die Nothwendigkeit einer zweiten Reihe von Untersuchungen, die ich (sit venia verbo) den epidemiologischen Theil des Problems nenne, welcher das Studium der localistischen Frage und seinen Einfluss bei der Verbreitung der Infection in sich begreift, wohlverstanden, verglichen mit den bekannten Factoren der Malaria-Infection des Menschen. Nur auf diese Weise konnte der Gegenstand vollständiger studirt werden.

a) Lokalistischer Einfluss auf die natürliche Infection der Tauben.

Wo nehmen die Tauben die parasitäre Infection?

Das ist die erste Frage, die sich dem Geiste aufdrängt, und deren Beantwortung übrigens viel Licht auf das Thema zu werfen im Stande ist. Wenn einmal die Annahme der Identität der Parasiten der Vögel mit den malarischen des Menschen gegeben, so muss man sofort daran denken, dass die genannten Parasiten sich an den malarischen Orten finden müssen. Zu diesem Behuf bestehen die ersten von uns angestellten Untersuchungen in einer längeren Beobachtung des Blutes von an malarischen Orten aufgewachsenen Haustauben, und deshalb als eine Control-Untersuchung die analoge Beobachtung des Blutes von Haustauben, die in Städten, an der Gesundheit zuträglichen Orten und in jenen gesunden, für malariafrei gehaltenen Centren geboren und ernährt wurden.

Zum Studium des ersten Theils habe ich mich absichtlich an verschiedene malarische Orte begeben, während der malarischen

Jahreszeit und während der guten. Ich habe lieber meine Beobachtungen für den ersten Theil unmittelbar an den malarischen Localitäten anstellen, als die Tauben jener Orte in die Stadt befördern wollen, um mich möglichst gegen die Einwendung zu schützen, dass im Fall negativen Befundes dieser sich stützen möchte auf den Einfluss der neuen Atmosphäre, des Wohnungswechsels oder auf das verschiedene Regimen der Ernährung nnd des Lebens. Für den zweiten Theil studirten wir die Haustauben, die in den verschiedenen Stadtvierteln, und andere, die an verschiedenen Punkten des Landes, auf der Barriera des Bosco, wahren heilskräftigen Orten, gekauft waren.

Es waren auch die Experimente der Gegenprobe erforderlich für das Studium der Art und Weise des Verhaltens der gesunden Tauben gesunder Orte an malarischen Orten und der gesunden Tauben malarischer Orte an gesunden Orten.

Der Tauben, die wir examinirt haben für diese Reihe von Untersuchungen an den verschiedenen Orten und in den verschiedenen Jahreszeiten und während dreier Jahre, sind sehr viel. Ich habe ein reichhaltiges Protocoll der bei dieser Gelegenheit gemachten Beobachtungen gesammelt, und viele von ihnen werden Gegenstand einer anderen Arbeit über eine verwandte Frage sein. Ich nehme also aus dem Tagebuch des Laboratoriums nur die Untersuchungen, welche für das gegenwärtige Studium dienen.

Glücklicherweise fallen bei der grossen Mehrzahl von Fällen die Parasiten der Vögel in den mikroskopischen Untersuchungen von frischem Blut leicht in's Auge; und die Beobachtung macht sich so zu sagen verhältnismässig leicht für den, welcher ein an diese Untersuchungen gewöhntes Auge hat, und erfordert also wenig Zeit, besonders wenn man eine verständige Hülfe bereit hat. Auf der anderen Seite sind die Tauben in unserer Gegend im Ueberfluss vorhanden und hat man sie leicht bei der Hand. Sie vertheilten sich in eine oder zwei Schaaren oder gar je nach der Menge in drei oder vier Schaaren; und so fiel die tägliche, mikroskopische Beobachtung auf die Tauben der ersten oder zweiten Schaar, um sie Tags darauf an denen der dritten oder

vierten Schaar zu wiederholen. Und so kam jede Taube regelmässig dran, jeden Tag oder alle zwei Tage und so fort eine ziemliche Zeit lang untersucht zu werden.

Es ist durchaus nicht unnütz, darauf hinzudeuten, dass oft und insonderheit in den zweifelhaften Fällen ausser den einfachen, frischen Blutpräparationen, dauernde Präparationen gemacht wurden, die man mit dem gewöhnlichen Anilin oder mit den, den menschlichen Malaria-Parasiten eigenen Färbungen färbte.

1. Tauben von malarischen Orten während der malarischen Jahreszeit.

Die im Ueberschuss vorhandenen, in malarischer Gegend von uns für dieses Studium ausgewählten Tauben stammten nicht aus anderen Orten; sie waren so zu sagen eingeboren, in der Gegend geboren und gewachsen, aufgezogen im Haus und Hof, frei oder im Käfig gehalten.

Die malarische Gegend, von der wir reden, ist der Gürtel Land, welcher zwischen Acicastello und dem ganzen Küstenstrich von Capomolini begriffen ist und als stark malarisch während der sommerlich-herbstlichen Jahreszeit classificirt ist. Die geprobten Tauben gehörten den zerstreuten Meiereien der Gegend an (Capo-Molini — Hanf- und Flachsröste, Molino nuovo, Rocca tagliata, Metallisa, Torre Santa Anna u. s. w.). — An 70 Tauben, deren Blut methodisch beobachtet wurde während der ganzen sommerlich-herbstlichen Jahreszeit an den vorgenannten Orten selbst, habe ich 19, d. h. ungefähr 27% inficirt gefunden. Einige sind 1 bis 2 Monate lang, andere 3 Monate, wieder andere eine längere Zeit hindurch inficirt geblieben.

2. Tauben aus malarischen Orten während des Winters.

Der Tauben, die wir studirt und deren Blut während der Monate Januar, Februar, März mikroskopisch beobachtet haben, sind 60. Von diesen wurden 10 inficirte gefunden und andere 3 inficirten sich gegen Ende März. Wir haben also im Ganzen 13 inficirte Tauben, d. h. 21%.

3. Tauben gesunder Orte (Stadt) während der verschiedenen Jahreszeiten.

Von 66 in der Stadt aufgezogenen und in all den verschiedenen, mehr oder weniger gesunden, aber für frei von Malaria gehaltenen Vierteln derselben sind 18 inficirt gefunden worden während der sommerlich-herbstlichen Jahreszeit, d. h. 27 %; weiter sind von 48 während des Winters examinirten Tauben 9 inficirt gefunden worden, d. h. 18 %.

Ein grösseres Quantum von inficirten Tauben hat sich bei den in den Höfen freigehaltenen gefunden, welche gezwungen sind, sich das tägliche Brod selbst zu verschaffen, als bei den im Käfig aufgezogenen.

4. Tauben aus sehr gesunden Orten (Land).

Zu dieser Kategorie gehören nur 26. Auf dem Lande, in den Bauernhäusern werden diese Thiere besonders in den Höfen aufgezogen. Von ihnen, die fast einen Monat lang beobachtet wurden, fanden sich 7 inficirt, nämlich 23 %.

5. Gesunde Stadttauben, in malarische Orte während der malarischen Jahreszeit befördert.

Es werden nach Capo-Molini im Monat August während der Röstung des Leines 36 gesunde, mit mikroskopischer Beobachtung viele Tage lang controlirte Tauben gebracht. Man legt Colonien von Tauben in Käfigen in den angrenzenden malarischen Orten an: Metallisa, Capo-Molini, Rocca tagliata, verschiedenen Meiereien des Ortes, innerhalb des Lein-Magazins, am Rande der Röstbecken, auf den Trockenböden, auf den zu röstenden Lein u. s. w. Nach ungefähr 2 Monaten Verweilens an den vorgenannten Orten, während deren Verlauf jede täglich oder alle zwei Tage behandelt wurde, zeigten sich 8 Tauben inficirt, d. h. 22 %.

6. Gesunde Stadttauben, die an malarische Orte während der guten Jahreszeit befördert wurden.

Im März und April werden 24 gesunde, einige Zeit lang in der Stadt beobachtete Tauben, die man immer parasitenfrei gefunden hatte, in die vorbezeichneten Orte befördert (Capo-Molini,

Maceratojo, zerstreute Meiereien, Metallisa u. s. w.) und gruppenweise in Käfige vertheilt. Nach einem Monate waren schon 2 inficirt, am Ende des zweiten Monats 3 andere, so dass sich im Ganzen 5, d. h. 22 % inficirten.

7. Gesunde Tauben, aus malarischen Orten in gesunde (Stadt) gebracht.

Auf diese Beobachtung beziehen sich 12 Tauben, welche an den verschiedenen malarischen Orten gesammelt und dann im April ins Laboratorium herübergebracht wurden. Ungefähr zwei Wochen lang vorher hatte ich mich ihrer Gesundheit versichert mit der methodischen Beobachtung des Blutes. Sechs von diesen Tauben wurden frei im geschlossenen Hof gehen gelassen, sechs andere wurden in Ställen in einen Käfig gesetzt. Nach anderthalb Monaten zeigte sich inficirt eine der freien und nach zwei Monaten auch eine von denen im Käfig. Das macht im Ganzen unter 12 Tauben zwei inficirt, d. h. 16 %.

8. Gesunde Tauben in malarischen und gesunden Orten in verschiedenen Höhenlagen.

Diese Experimente wurden zu dem Zwecke gemacht, um den Einfluss der Höhenlage bei der Verbreitung der Infection zu sehen, d. h. ob die Parasiten der Vögel sich häufiger gegen die tiefen oder die hohen Bodengegenden finden, und sodann, wo die Tauben mit mehr Wahrscheinlichkeit sich inficiren können.

Bei dieser Beobachtung begreift man gesunde, an gesunden Stellen der Stadt und an sehr gesunden des Landes zusammen ebenso gesunde, an malarischen Orten während der Malaria-Jahreszeit und während der guten aufgezogene Tauben. Weil die Ergebnisse übereinstimmend sind, so verknüpfen wir alle diesbezüglichen Untersuchungen. Die Beobachtung wurde ungefähr 3 Monate fortgesetzt.

	Höhe	inficirt
Nr. 6 Tauben, gesunde, an gesunden Orten, gehalten im Käfig, Terrasse	24 m	0
» 6 » » an gesunden Orten, gehalten im Käfig, Terrasse	13 »	0
» 6 » » an gesunden Orten, gehalten im Käfig, Terrasse	7 »	0
» 6 » » an gesunden Orten, gehalten im Käfig, Erdboden	0 »	1

		Höhe	Inficirt
Nr. 6 Tauben, gesunde,	an gesunden Orten, frei im Hofe, Erdboden	0 »	1
» 6 » »	an sehr gesunden Orten, im Käfig, Terrasse	15 »	0
» 4 » »	an sehr gesunden Orten, im Käfig, Terrasse	8 »	0
» 6 » »	an sehr gesunden Orten, frei im Hofe, Erdboden	0 »	2
» 6 » »	an malarischen Orten, im Käfig, Erdboden	16 »	0
» 6 » »	an malarischen Orten, im Käfig, Erdboden	8 »	0
» 6 » »	an malarischen Orten, frei im Magazin	0 »	1

Fassen wir alles kurz zusammen, was oben auseinandergesetzt ist, so geht daraus klar hervor, dass die gesunden Tauben ohne Unterschied so gut an malarischen Orten wie an gesunden, höchst gesunden angesteckt werden können und es scheint, dass der mittlere Procentsatz der Tauben, welche an den malarischen Orten sich inficiren, sich nicht viel unterscheiden vom demjenigen der Tauben, welche in der Stadt und Land inficirt werden. Dagegen scheinen die Jahreszeiten einen gewissen Einfluss auf die Infection der Tauben zu haben, weil die Durchschnittszahl der Inficirten im Winter geringer ist als diejenige der Inficirten im Sommer und Herbst. Ein merkwürdiges Factum ist, dass die Infection leichter in den niederen Zonen des Erdreichs als in den hohen verbreitet wird; und diess lässt an die Wahrscheinlichkeit denken, dass die Hämoparasiten der Tauben bei den normalen Bedingungen der Atmosphäre sich nicht viel erheben können wegen ihrer Grösse und ihres specifischen Gewichts; wenn auch die Möglichkeit nicht ausgeschlossen ist, dass sie durch die Winde in die Weite und in die Höhe befördert werden können. Danach glauben wir, zu dem allgemeinen Schluss kommen zu können, dass die Parasiten der Vögel (Tauben) sich überall zerstreut finden, so an malarischen Orten wie an gesunden, und dass die Infection nicht an die speziellen Bedingungen des malarischen Bodens gebunden ist, da die Tauben bei ihren natürlichen Lebensbedingungen sie an jedem Tage und zu jeder Jahreszeit eingehen können. Es bliebe so fast gar kein specifischer örtlicher Einfluss bei der Verbreitung der Infection. Daraus folgt mit

Nothwendigkeit, dass diese Parasiten sich von den malarischen unterscheiden, auch wegen der Bedingungen des Ortes und der Atmosphäre, indem die des Menschen an specielle Lebensbedingungen in bestimmten Orten und unter dem Einfluss bekannter Factoren gebunden sind, während dagegen diejenigen der Tauben an keine der vorgenannten Bedingungen gebunden ist.

b) Zusammenleben gesunder Tauben mit inficirten.

Wenn die Parasitär-Infection auf dem Wege der Bluteinimpfung von inficirter auf heile Taube nicht übertragen werden kann, so kann man doch nicht sagen im absoluten Sinne, dass es nicht andere Verpflanzungswege gebe. Das Zusammenleben, das bei diesen Thieren so intim ist, kann dem Studium der vorliegenden Frage sehr gut neue Wege eröffnen. Bei dem Studium der Infectionen darf dieses Kriterium durchaus nicht vergessen werden. Bekannt sind die Infectionen in den Ställen, wo zusammen mit angesteckten Thieren gesunde Thiere leben, welche durch unmittelbare Berührung die Ansteckung der Gefährten sich zuziehen. Bekannt sind die Infectionen vermittels des Kothes und der Bodensätze und die Infectionen bei den Thieren, welche gezwungen sind, ihre Nahrung unter den Abfällen und dem Auswurf inficirter Thiere zu wählen, und endlich wohnen wir manchmal auch Fällen von Infection bei, durch Zusammenleben von inficirten Thieren mit den gesunden, bei denen uns der Weg der Uebertragung entgeht oder nicht recht klar erscheint.

Darum habe ich zu dem Zwecke, einen Beitrag zu der Frage zu stellen, einige Untersuchungen in diesem Bezuge unternommen.

In gesunden Lokalen, innerhalb des Gartens des Institutes werden drei grosse Käfige gehalten; in einem ersten habe ich 6 inficirte und 6 gesunde Tauben gesetzt, in einem zweiten 5 inficirte und 11 gesunde, und in einem dritten 6 gesunde zur Controle. Um die möglichen Verwechselungen zu vermeiden, werden die inficirten Tauben regelmässig mit Fuchsin auf dem Kopfe markirt, die gesunden sind ohne Färbung. Zwei Wochen lang waren die Versuchstauben schon Gegenstand methodischer mikroskopischer Beobachtung des Blutes gewesen.

Man gab den Thieren Morgens und Mittags zu fressen, indem man eine Portion auf den Grund des Käfigs, d. h. auf den Boden fallen liess, und eine Portion in kleinen Kübelchen. Die Reinigung der Käfige geschah alle zwei bis drei Tage. Für alle Thiere machte man die Versuchsbedingungen gleich. Das Examen des Blutes der gesunden Tauben geschah alltäglich, das der inficirten alle zwei Tage. Die Tauben der drei Käfige wurden ungefähr 3 Monate lang beobachtet.

Hier sind kurz die Resultate. Im ersten Käfig (6 inficirte, 6 gesunde Tauben) zeigten 2 von den inficirten Tauben nach ungefähr einem Monat eine bemerkenswerthe Verminderung der parasitären Formen, 2 eine zeitweilige Heilung, weil die Formen verschwunden waren und nach einiger Zeit wieder erscheinen, 2 nichts Bemerkenswerthes. Von den 6 mit ihnen zusammenlebenden gesunden Tauben hielten sich 5 normal, 1 zeigte sich nach fast 2 Monaten inficirt.

Im zweiten Käfig (5 inficirte, 11 gesunde Tauben) zeigten von den inficirten Tauben 2 ein schrittweises Abnehmen der parasitären Formen, 3 nichts Bemerkenswerthes. Von den 11 gesunden Tauben hielten 10 sich normal und nur eine einzige zeigte sich nach anderthalb Monaten inficirt.

Im dritten, dem Controlkäfig, (6 gesunde Tauben) zeigte sich 1 nach anderthalb Monaten inficirt, 5 erhielten sich gesund.

Wie man aus dieser kurzen Rechnungsablegung sieht, konnte man sowohl im Controltaubenkäfig als in den beiden Käfigen, wo gesunde Tauben mit inficirten gemischt waren, Fälle von Infection constatiren, wie auch eine von den inficirten zeitweilig genas. Muss man nun die hinzugekommenen neuen Ansteckungsfälle mit diesem oder jenem Wege von Uebertragung durch das Factum des Zusammenlebens oder mit der Möglichkeit verbinden, dass die gesunden Tauben, unabhängig von den andern inficirten, besonders auf ebener Erde, selbst sich die Ansteckung zuziehen können? Ich nehme die zweite Ansicht an, und in der That, wenn man das Zusammenleben vorbringen sollte, so wüsste man sich nicht zu erklären, warum sich die Infection nur auf ein Thier beschränkt, warum dies so spät geschieht, und wusste ferner auch die Infection der Taube im Controlkäfig nicht zu erklären;

im Gegentheil scheint es, diese letzte Beobachtung sollte genügen, um jede andere Möglichkeit auszuschliessen.

Ich folgere also: es scheint, dass das Zusammenleben der gesunden Tauben mit den inficirten keinen Einfluss habe auf das Uebertragen der Infection von Taube zu Taube, dass man dagegen solche für an die gemeinsamen Ortsbedingungen gebunden erachten muss. Professor Grassi theilte mir mündlich mit, dass seine Ergebnisse bei ähnlichen, von ihm an Spatzen gemachten Versuchen den meinen identisch gewesen sind.

c) Einfluss der Erblichkeit auf die Infection.

Die früheren Versuche haben Raum gemacht einer anderen Ordnung von Experimenten. Im Laufe aller dieser Untersuchungen war es uns verliehen, in den Käfigen, wo die inficirten Tauben gehalten wurden, oft einige Eier zu finden. Manchmal gelang es, die Eier zu entnehmen und ebenso die Tauben, welche sie gelegt hatten, für die Brut. Die Mehrzahl dieser Eier wurde jedoch unvollständig ausgebrütet; von einem anderen, wenn auch kleinen Theile Eier erhielt man schon todtgeborene Täubchen oder solche, welche nach kurzer Zeit starben, und solche, die glücklich aufkamen.

Wir haben so neues, aus Eiern, Nestlingen und Täubchen, die von inficirten Alten herkommen und, was letztere betrifft, auch von diesen aufgezogen werden, bestehendes Material, auf das wir unsere Untersuchungen haben leiten können. Zu diesem Studium wurde ich gebracht durch einige diesbezügliche von Danilewsky gemachte Beobachtungen. Dieser Forscher hatte im Blute von Jungen die Anwesenheit parasitärer Formen bemerken können. Um diese von ihm erblich genannte Infection zu erklären, nimmt er die Möglichkeit einer Uebertragung an während der Bildung der Eiweissschicht um das Ei herum im Tubus von Falloppio. Der Embryo des Hämatozoons, zufällig aus dem Blut entwichen, könnte in den Körper des Embryo und in sein Blut eindringen, wo er sich zu entwickeln vermag. Als aber Danilewsky später diese Parasitärformen in den Jungen verschiedener Arten von Vögeln und sie nur bei denen gefunden, welche die

Speise durch die Einschnäbelung der Alten erhalten und nicht bei denen, die sich von selbst ernähren können, so verbesserte er die erste Behauptung und liess mit grösserer Wahrscheinlichkeit zu, dass die Ueberpflanzung der Infection in den gewöhnlichen Fällen mit dem eingeschnäbelten Futter der inficirten Alten vor sich gehen muss.

Die Experimente des vorhergehenden Kapitels über das Zusammenleben möchten wohl bis zu einem gewissen Punkte die zweite Behauptung Danilewsky's nicht unterstützen, und in der That wird sie auch nicht von den Beobachtungen unterstützt, welche bei von inficirten Alten gefütterten Jungen angestellt wurden. Das Examen des Blutes dieser Jungen liess nie auf irgend eine parasitäre Form stossen. Und auch die erste Hypothese würde keine Bestätigung finden in unseren Beobachtungen, die wir an den Eiern, den Embryonen, den Nestlingen, bei denen das genaueste Examen negativ gewesen ist, angestellt haben.

Um die Wahrheit zu sagen, waren unsere diesbezüglichen Untersuchungen nicht zahlreich; sie würden jedoch in ähnlichen Beobachtungen von Grassi und Feletti bei Sperlingen eine Bestätigung erhalten. Nie haben diese Forscher in ihren Untersuchungen an Eiern auf dem Wege der Entwickelung und an Nestlingen parasitäre Formen gesehen, während sie im Blut der Flüggen auf solche gestossen sind. So dass wegen dieses und auch wegen des andern Factums, dass die inficirten Alten zahlreich und die Nestlinge wenige sind, welche die Infection zeigen, musste man nach ihnen die erbliche Infection und jene auf dem Wege des Aufziehens ausschliessen und rationeller die natürlichste Infection annehmen, nämlich die von Seiten der Atmosphäre.

d) Versuchs-Inoculationen.

Die Grundfrage, die Danilewsky vorgelegt, aber nicht durch das Experiment auf die Probe gestellt hat, um die Identität der Hämoparasiten der Vögel mit den malarischen des Menschen zu beweisen, war die Inoculation des Blutes vom malarischen Menschen auf gesunde Vögel und des Blutes von inficirten Vögeln auf gesunde Menschen. Seine Studien führten ihn zu dem

festen Glauben, dass solche Versuchsproben die wahre Controle für die Idee der Identität und das pathologische Kriterium gewesen wäre.

Die Einimpfung von malarischem Blut in verschiedene gesunde Thiere ist, wie wir in dieser Arbeit gesehen haben, seit längerer Zeit ohne irgend welchen Erfolg versucht worden. Es genügt, einen Blick auf die neuen Untersuchungen von Celli und Sanfelice u. A. zu werfen, von denen wir schon des Weiteren gesprochen haben, um alles zu sehen, was diese wohl verdienten Beobachter in ausgedehntem Maasse gethan haben. Ausser den gewöhnlichen Versuchen mit Milzsaft eines an der Perniciosa verstorbenen Individuums, mit welchem Saft sie die gewöhnlichen Thiere für das Laboratorium (Meerschweinchen, Kaninchen, Mäuse u. s. w.) impften, haben sie auch verschiedene Species Vögel, Tauben, Turteltauben, Eulen, Grünfinken geimpft, aber immer mit negativem Resultat.

Doch allein wegen des Factums, dass bei geänderter Modalität des Experiments ein negatives Ergebnis vielleicht positiv werden kann, haben wir andere Experimente versuchen wollen. Wir haben 16 Tauben mit Blut inoculirt, das von einem malarischen Individuum herrührte, welches unregelmässige Fieber litt und im Blute Halbmondformen hatte.

Die Impfung wurde an 5 Tauben hypodermisch, an 7 auf dem endovenösen, an 4 auf dem abdominalen Wege gemacht. Das Blut des malariakranken Individuums wurde vermittels eines kleinen Aderlasses aus der Vena basilica entnommen.

Die Tauben waren vor der Impfung ein paar Wochen hindurch mit mikroskopischer Beobachtung des Blutes controlirt worden, um mich zu vergewissern, dass sie gesund waren. Nach Ausführung der Impfung wurden sie nach 2, 4, 6, 8 Stunden und dann regelmässig täglich oder alle zwei Tage beobachtet.

Wir fassen alle in diesem Bezug gemachten Versuche in der Tabelle auf S. 290 kurz zusammen.

Wie man sieht, ist unser Ergebnis demjenigen der anderen Beobachter identisch gewesen, das ist immer negativ. Ein einziges Mal schien es uns bei den Experimenten auf dem endovenösen Wege, nach 4 Stunden, die seit der Inoculation verflossen waren,

einige Halbmonde zu sehen, geschwollenen Enden und abgerundet waren, diese wurden für eine Form auf dem Wege der Zerstörung angesehen. Nach jener Beobachtung war es uns nicht verliehen, auf andere solche zu stossen.

1. Inoculation von Blut malarischer Menschen in gesunde Tauben.

Ordnungszahl d. Experimente	Befund d. Blutes des malarischen Menschen	Qualität u. Quantität d. inoculirten Blutes ccm	Versuchs thiere	Via der Inoculation	Dauer d. Beobachtg. in Tagen	Ergebnis der Beobachtung
		nicht defibrin.				
1	semilunäre Formen und kleine endoglobuläre Amoeben	2	Taube	hypodermica	30	negativ
2	do.	3	»	»	28	»
3	do.	5	»	»	45	»
4	do.	4	»	»	38	»
5	do.	5	»	»	45	»
		defibrinirt				
6	do.	1	»	endovenosa	20	»
7	do.	1	»	»	30	»
8	do.	2	»	»	40	nach 4 St. zweifelhafte Semiluna die verschwand
9	do.	$1\frac{1}{2}$	»	»	27	negativ
		nicht defibrinirt				
10	do.	1	»	»	45	»
11	do.	2	»	»	30	»
12	do.	2	»	»	28	»
13	runde, pigmentirte	1	»	endoabdominalis	30	»
14	do.	2	»	»	40	»
15	do.	2	»	»	36	»
16	do.	2	»	»	45	»

Ausserdem, dass ich an Tauben, wie ich das von Anfang gesagt, solche angestellt, habe ich andere Inoculationen von Malaria-Blut auf andere Thiere, 5 Hunde, 6 Kaninchen, 6 Meerschweinchen, 2 Katzen, 1 Affe, 1 Wolf, aber immer mit dem gleich negativen Ergebnisse der anderen Autoren angewendet.

Als Anhang an die ersten fasse ich diese andern Experimente wieder in der nachfolgenden Tabelle kurz zusammen.

2. Inoculationen von malarischem Blut auf andere Thiere.

Ordnungszahl der Experimente	Befund des Blutes des malarischen Menschen	Qualität u. Quantität d. inoculirten Blutes ccm	Versuchsthiere	Via der Inoculation	Dauer der Beobachtg. in Tagen	Ergebnis der Beobachtung
	Formen:	nicht defibrinirt				
1, 2, 3	v. Quartana-Fieber	3	Kaninchen	hypodermica	30	negativ
4, 5, 6	do.	5		endoabdominalis	30	»
7, 8, 9	do.	3	Meerschweinchen	hypodermica	20	»
10, 11, 12	do.	3	»	endoabdominalis	26	»
13, 14	do.	3	Hunde	endovenosa	24	»
15	do.	5	»	endoabdominalis	20	»
16, 17	do.	3	»	trachea	22	»
18	runde pigmentirte	2	Katze	endovenosa	35	»
19	do.	2	»	hypodermica	28	»
20	do.	2	Wolf	endovenosa	30	»
21	do.	2	Affe	»	60	»

Die Tabelle ist an sich klar in Bezug auf die negativen Resultate und deshalb halte ich es für unnütz, über sie mich weiter auszudehnen. Alle diese Resultate bringen uns also zu dem allgemeinen Schlusse, dass die Uebertragung der Malaria-Infection vom Menschen auf das Thier (mindestens auf die von uns studirten Arten) mittels der Inoculation von Malaria-Blut, auf welchem Wege man sie auch versuchen möge, unmöglich ist.

3. Inoculation von Blut inficirter Tauben auf gesunde Menschen.

Zur Controle jener Versuche musste man, der Ansicht von Danilewsky gemäss, andere umgekehrt einrichten, d. h. die Inoculation von Blut inficirter Tauben auf einen gesunden Menschen. Die Schwierigkeiten, denen ich bei dieser Art von Untersuchungen begegnete, können Niemanden entgehen, aus mehreren Gründen wissenschaftlicher und praktischer Natur, über die aber nach meinem Dafürhalten es wenig an der Zeit wäre, mich zu unterhalten. Ich weiss nicht, ob ein anderer ähnliche Untersuchungen angestellt, ich kenne wenigstens keine solche. Und die meinigen

sind auch nicht zahlreich, da ich selbst nun einmal sehr wenig Versuche in dieser Richtung, welche nicht frei von mancher Gefahr sein können, rechtfertige. Ich habe nur vier solcher angestellt, und von diesen melde ich kurz die Ergebnisse. Von einer mit Halbmonden inficirten Taube nimmt man, eindringend mit der Syringe Tursini unmittelbar in die Vena jugularis, Blut, das gleich drei Individuen, welche sich mit freiem Willen dem Experiment aussetzten, gleich eingespritzt wird. Es ist unnütz, zu sagen, dass man bei diesen Versuchen immer mit den strengsten antiseptischen Bürgschaften vorgegangen ist, um jeden unangenehmen Zufall zu vermeiden.

Der 1., B. C., erhält unter der Haut des Armes 1 ccm nicht defibrinirtes Blut der Taube. Das Individuum befand sich immer wohl. In seinem 40 Tage lang untersuchten Blut traf man nie auf irgend eine der inoculirten Formen.

Der 2., A. M., empfängt unter der Haut des Vorderarmes 1 ½ ccm von nicht defibrinirtem Blut der vorgenannten Taube. Das Individuum hatte nichts zu leiden. Das auf dem Wege der gewöhnlichen Punctur des Fingers entnommene Blut wurde nach 2, 4, 6 Stunden und später jeden Tag, 36 Tage lang examinirt und ergab immer ein negatives Resultat.

Der 3., A. S., erhält unter der Haut des Vorderarmes 1 ccm wohl defibrinirtes Blut der inficirten Taube. Die Prüfung des Blutes des Individuums bis zu 15 Tagen seit der Inoculation liess nie eine der inoculirten Formen merken.

Der 4. Versuch verdient grössere Betrachtung. Die Injection des Blutes der inficirten Taube wurde auf dem endovenösen Wege vorgenommen. Das Blut des Thieres war voll semilunärer Formen, und von diesen gab es sehr viele im Augenblick des Versuchs.

A. S., welcher 15 Tage früher die hypodermische Injection des Blutes bekommen hatte, wollte freiwillig auf endovenösem Wege das Blut der inficirten Taube empfangen, obgleich er gewarnt worden war, dass das Experiment nicht ohne Gefahr wäre. Zu solchem Behuf wurde ein breiter Aderlass der Venae jugulares der Taube vorgenommen, das aufgefangene Blut mit allen schuldigen Vorsichtsmaassregeln passend defibrinirt, die

Syringe sterilisirt und in einer Temperatur von 37 ° gehalten und dann der Arm des Individuums präparirt, so wurde vorsichtig und langsam die Injection von 1 ccm gedachten Blutes in die Vena basilica vorgenommen [1]).

Das Individuum trank unmittelbar darauf einen Liter Wein in zwei Absätzen und ging schlafen. Es schlief tief 12 Stunden lang, und den anderen Tag schien es noch vom Schlaf betäubt. Ausser ein wenig Kopfschmerzen, weil es zu viel geschlafen hatte und wegen der Wirksamkeit des Weins, wie es sagte, merkte es kein anderes Uebelbefinden, so dass es seine Arbeit wieder aufnehmen konnte.

Die Prüfung des Blutes, die erst gegen 26 Stunden später vorgenommen werden konnte. mit Beharrlichkeit und lange Zeit hindurch Tag für Tag wiederholt, liess nie irgend eine der inoculirten Formen merken. Das Individuum befand sich immer wohl und war nie von Fieber oder andern bemerkenswerthen Störungen erfasst; und 30 Tage nach dieser Inoculation entfernte es sich aus unserer Beobachtung.

Obwohl diese Versuche gering an Zahl sind und da ich nicht die Absicht habe, ihre Zahl zu vermehren, so beschränke ich die Schlussfolgerung auf meine wenigen erhaltenen Resultate, auf Grund deren die parasitäre Infection der Tauben auf den Menschen nicht übertragbar ist mit der hypodermischen und venösen Injection des inficirten Blutes. Diese Schlussfolgerung, der ich nur einen beschränkten Werth zugestehe (einen absoluten Werth könnte sie nur haben, wenn viele, aber sicherlich nicht rathsame, Versuche in diesem Behufe möglich wären), bekräftigt und vervollständigt die andern negativen, schon befestigten, mit der Inoculation von Malariablut auf gesunde Tauben.

Die experimentelle Idee also, worauf Danilewsky sein Criterium der pathologischen Identität der Blutparasiten des

1) Bevor ich mich anschickte, die endovenöse Injection bei dem Individuum A. S. anzustellen, nahm ich mehrere an 2 Hunden vor, mit dem nämlichen Blut und mit denselben Vorsichtsmaassregeln, ohne einen Zwischenfall von Seiten der Injection zu erhalten.

Menschen mit denen der Vögel gründet, wird vom Experiment nicht bestärkt.

* * *

Die Auseinandersetzung der erwähnten Untersuchungen in diesem zweiten Theile der Arbeit lässt uns eine kurze Wiederaufnahme der Resultate, der wichtigsten, zu denen wir gelangt sind, für nöthig erachten, um jene nothwendigen Schlüsse herzuleiten, welche als Beitrag zu der Lösung des auf die Malaria der Vögel und auf ihre Hämoparasiten bezüglichen Problems dienen sollen.

Nachdem wir im allgemeinen Theil die Wechselfälle der bedeutendsten Resultate der experimentalen Malaria-Infection in den Thieren an uns hatten vorüberziehen lassen, haben wir das allgemeine Resultat bestätigen können, zu dem viele Autoren gelangt waren, nämlich wegen der Unschädlichkeit der Inoculation des Blutes eines malariakranken Individuums auf unsere Hausthiere. Alle zu diesem Zweck gemachten Versuche, wie mannichfach auch die Inoculationswege gewesen, wie oft die Modalitäten des Experiments gewechselt, wie sehr die Species von dabei gebrauchten Thieren, mit Einschluss des Affen. geändert sein mögen, so ist doch die Uebertragung der Malaria-Infection auf die Thiere unmöglich gewesen. Dies führt uns unbedingt zu der Annahme einer natürlichen Immunität unserer Thiere im Allgemeinen in Bezug auf diese Infection; obschon Gründe der Klugheit uns dazu bringen, Vorbehalte zu machen für jene anderen Species von Thieren, die bis jetzt dem Experiment nicht unterworfen worden sind, um so mehr, als das so gemeiniglich beobachtete Factum, dass unsere Hausthiere an stark malarischen Orten leben können, ohne anscheinende, auf die Malaria bezügliche Störungen aufzuweisen.

Der specielle Theil unserer Untersuchungen beschäftigt sich mit der wichtigen, von Danilewsky über die Malaria der Vögel, oder besser über die von ihm gemachte Entdeckung einiger Parasiten der Vögel vorgebrachte Frage, Parasiten, die er ohne weiteres unter dem zoologischen und pathologischen Gesichtspunkte mit dem malarischen des Menschen identificirte. Das

Studium solcher Frage hat zu zwei Versuchsreihen geführt. In der ersten haben wir uns mit der Art und Weise des Standes der Temperatur in den inficirten Vögeln mit Controle der gesunden, zu dem Zwecke, um ihre Unterschiede besser zu prüfen, sodann mit der Action einiger Medicamente als Therapieversuche und endlich mit einigen Experimenten künstlicher Infection zwischen diesen Thieren.

So haben wir hinsichtlich der Temperatur erhärten können, dass die Anwesenheit von Parasiten im Blute der Tauben bei letzteren keine Störung bringt, die sich mit Temperaturerhöhungen bemerken liesse.

Für die therapeutischen Versuche haben wir festgestellt, dass die angewandten Mittel: Chinin, Arsenik, Sublimat, die auf hypodermischem, venösem, abdominalem und Verdauungswege angewandt und verschiedene Zeit lang und in verschiedenen Dosen fortgesetzt wurden, sich unwirksam auf die Lebens- und Widerstandskraft der Hämoparasiten der Vögel benahmen.

Da wir endlich durch die künstlichen Inoculationen von Blut inficirter Tauben auf gesunde Tauben auf hypodermischem, abdominalem, venösem und pulmonalem Wege immer negative Ergebnisse erhalten hatten, so haben wir festgestellt, dass die Transmission der Infection zwischen diesen Thieren nicht möglich ist.

In der zweiten Reihe Untersuchungen haben wir die Basis des Experiments erbreitert, um einen Beitrag zu der natürlichen Infection der Thiere zu geben, und dann unsere Aufmerksamkeit auf das Studium des örtlichen Einflusses, das Zusammenleben der inficirten Vögel mit den gesunden, auf die Erblichkeit und auf die die künstliche Infection gerichtet.

Was den Einfluss der verschiedenen Orte auf die Infection angeht, so führen uns unsere Erfahrungen zu der Annahme, dass die parasitäre Infection der Tauben von diesen Thieren, wo überall immer und mit gleicher Leichtigkeit und in jeder Jahreszeit, so an malarischen wie an gesunden Orten zugezogen werden kann; dass diese Parasiten überall zerstreut sind, ohne an specielle Bedingungen des Terrains oder andere physische Factoren ihre natürlichen Lebens- und Widerstandsbedingungen zu knüpfen.

Was nun den Einfluss des Zusammenlebens auf die Uebertragung der Infection betrifft, so erlauben uns unsere Erfahrungen, jede Möglichkeit auszuschliessen; wir haben ja nun einmal gesunde Vögel mit inficirten zusammen gehalten, und die Resultate sind negativ gewesen.

Auch der erbliche Einfluss und derjenige der Auffütterung von Seiten der inficirten Alten auf die gesundgeborenen Jungen müssen ausgeschlossen werden, um rationeller die natürliche Infection von Seiten der Atmosphäre auch für die Jungen anzunehmen.

Endlich haben die experimentellen Inoculationen, als Versuche von wechselseitiger Infection auf dem Wege des Blutes, zwischen malarischem Menschen und gesunder Taube und zwischen inficirter Taube und gesundem Menschen zu negativen Ergebnissen geführt, wie auch der Weg gewesen sein mag, auf welchem der Inoculationsversuch angestellt worden ist.

Die Betrachtungen, welche aus den erhaltenen Resultaten gezogen werden können, dürften also nicht sehr günstig sein für Danilewsky's Idee von der zoologischen und pathologischen Identität der Parasiten der Vögel (Tauben) mit den malarischen des Menschen; denn keines der Argumente, welche sich darauf beziehen, bekräftigt eine solche Idee.

Und während so Grassi und Feletti, von zoologischer Seite den Gegenstand studirend, sagen, dass die Malaria-Parasiten der Vögel nicht ohne weiteres mit jenen des Menschen identificirbar sind, eine Meinung, die auch zum grossen Theil von Celli und Sanfelice und Kruse adoptirt ist, so haben wir von biologischer Seite noch ganz andere Verschiedenheiten gefunden, um immer mehr die beiden Species von Hämoparasiten von einander zu entfernen, wie wir übrigens schon gesagt haben und wie es noch besser aus folgender Uebersicht hervorgeht. Gegenüberstellung:

Im malarischen Individuum.	**In der inficirten Taube.**
Temperaturerhöhungen in Form von Fieberanfällen.	Keine Temperaturerhöhung.

Im malarischen Individuum.	In der inficirten Taube.
Fieberaccesse in Beziehung zum Cyclus der Parasiten.	Keine Beziehung zwischen Cyclus von Parasiten und Temperatur.
Chinin und Arsenik sind wirksame Mittel.	Chinin und Arsenik zeigen keine Wirksamkeit.
Die örtlichen Bedingungen sind ein wichtiger und wesentlicher Factor bei der Infection.	Es gibt keinen örtlichen Einfluss.
Die von vielen bestätigte erbliche Infection.	Die erbliche Infection kommt nicht vor.
Die künstliche Inoculation mit dem Malariablut auf ein gesundes Individuum bringt ständig die Infection hervor.	Die künstliche Infection auf dem Wege des Blutes von inficirter Taube auf gesunde Taube fällt nicht vor.

Es können in Wahrheit viele Parasiten anscheinend ähnlich sein, morphologisch sich nahestehen, auch zu einer nämlichen grossen Klasse gehören, aber das schliesst nicht die Identität in den Effecten ein. In der unermesslichen Klasse von Mikroorganismen haben wir viele Mikroben, welche, obgleich sie morphologisch grosse und strikte Kennzeichen von Verwandtschaft haben, so sehr, dass man sie morphologisch ähnlich nennen kann, doch wegen ihrer verschiedenen biologischen Action oder auch nur wegen einiger verschiedener biologischer Kennzeichen für wohl verschieden von einander betrachtet werden.

Nun werden die Zoologen ohne Zweifel diesen Zusammenhang im Genus, diese Verwandtschaft, diese Aehnlichkeit zwischen den Malaria-Hämoparasiten des Menschen und den Hämoparasiten der Vögel für durch die Aehnlichkeit der Formen bestärkt halten; was mich aber betrifft, so denke ich, dass die Hämoparasiten der Vögel, wenn sie auch morphologisch Analogien mit den malarischen des Menschen haben, doch von diesen wohl fern stehen müssen. Und wenn heutzutage an die Malariaparasiten

die ätiologische Idee von dieser Ansteckung im Menschen mit den dieser inhärenten Störungen geknüpft wird; und wenn wegen der erlangten Resultate die Action dieser malarischen Hämoparasiten sehr verschieden von derjenigen der Vögel ist, so könnte ich mit Grassi und Feletti (obwohl sie es sagen, um uns zu verständigen) nicht mehr im Einverständnis sein, die Denomination malarisch auch auf die Hämoparasiten der Vögel auszudehnen, eine Benennung, welche die richtige pathologische Anschauung, die man von denen des Menschen hat und die gerade bei jenen der Vögel fehlt, einschliessen würde.

Im Gegentheil, gerade um uns zu verständigen, würde ich vorschlagen, diese Hämoparasiten der Vögel durchaus nicht malarische zu nennen, da man in Anbetracht ihrer morphologischen Anologie nur dazu gelangen könnte, sie pseudomalarische zu nennen. Und während hiemit von einer Seite die zoologische Anschauung von der morphologischen Analogie gerechtfertigt bliebe, so würde unbedingt das pathologische Criterium nicht compromittirt werden. So, glaube ich, könnte man die Ausdehnung dieser Benennung »pseudomalarische« im Allgemeinen auf alle morfologisch verwandten und biologisch noch nicht gut definirten Parasiten der Vögel ausdehnen.

In der That, Celli und Sanfelice geben zwar die zoologische Verwandtschaft zu und haben zwar andere biologische Criterien, die von unseren Versuchen nicht bekräftigt wurden, fühlen sich aber nicht geneigt, die Parasiten der Vögel malarische Parasiten, sondern einfach Hämoparasiten zu heissen. Und das scheint uns in Wahrheit wohlgethan; auf jene Weise, wenn später auf Grund der zoologischen Verwandtschaft sich diese immer mehr ausdehnt und wenn man fortfährt, die generische Anschauung von malarischen Parasiten auch auf die Hämoparasiten der Kaltblüter auszudehnen, wird man bald dahin kommen den Weg zu verfehlen, inmitten der Schwierigkeiten der Klassification und Systematisation und zwar ohne irgend einen Vortheil für die Biologie und für die schon festgestellten Kenntnisse über die wahren Malariaparasiten des Menschen.

* * *

Es wird jetzt wohl von Interesse sein, ein Factum biologischer Ordnung, das auf die examinirten Vögel bezüglich ist, darzuthun.

Von dem Augenblick an, wo das Leben der Thiere mit der Gegenwart dieser Hämoparasiten vereinbar ist, von dem Augenblick (wenigstens für die Tauben), dass functionale Störungen, welche ihr Leben auf's Spiel setzen könnten, sich nicht bemerklich machen, wie lange auch die Zeitdauer des Verharrens dieser Parasiten im Blute sein mag, müssen wir da ihre Gegenwart als eine wahre Infection des Organismus betrachten? Mit anderen Worten, muss man diesen Parasitismus des Blutes der Tauben als eine wirkliche, eigentliche, ansteckende Krankheit in dem Sinn, wie wir ihn heute von ihr in der Pathologie haben, betrachten?

Immer mit Beschränkung des Factums auf die Tauben, in deren Blut diese Parasiten ihre Existenz mit allen biochemischen Phänomenen entfalten, ohne Präjudiz für die Thiere überhaupt, von dem Moment an, wo wir uns vor einem Fall finden, in welchem ein Parasit von der Substanz des Organismus eines Thieres Gewinn zieht, ohne ihm irgend einen Eintrag oder Störung im Allgemeinen oder wenigstens nur eine so leichte beizufügen, dass der beherbergende Organismus sich leicht auf dem Wege seiner ausgleichenden Kräfte dazu bequemt, scheint es uns, dass die Ideen eines Parasitismus (commensalismus von Van Beneden) nicht ganz unbeachtet bleiben sollte[1]. Dieser Idee zufolge »wäre der Hämocitozoismus der Tauben eine örtliche und partielle Krankheit, eine parasitische Krankheit des Blutes, welche gar keinen Einfluss auf die allgemeine Gesundheit hat, allein weil der Organismus sich an diese Krankheit gewöhnt mit Hülfe einer kräftigeren Ernährung oder der Hämatopoesis u. s. w. Ist dieser Parasitismus stark, so kann in Folge einer Schwächung im Ersatz der Organismus auch anfangen, sichtlich zu leiden«, ja zu unterliegen, aber ohne dass man sagen kann, dass er einer wirklichen, eigentlichen ansteckenden Krankheit unterlegen war.

Diese Idee hat Danielwsky zuerst sehr stark zweifeln lassen; aber dann war er mehr und mehr von dem Vorurtheil der zoologi-

1) Danilewsky, l. c. Recherches sur les parasites du sang des oiseaux. Karkoff.

schen und pathologischen Identität voreingenommen, liess sich von ihm beherrschen und glaubte, alle Elemente zu finden, um eine wahre, eigentliche, allgemeine Infection anzunehmen und sich an die Hypothese einer wahren, ansteckenden Krankheit, einer malarischen Infection in den Vögeln, der malarischen des Menschen ähnlichen, zu halten, eine Hypothese, die, wie wir schon gesehen haben, nicht von unseren Untersuchungen unterstützt wird.

Uebrigens will ich nicht weiter auf dem biologischen Gedanken dieses Parasitismus der Tauben bestehen, der sicherlich grösseren Vorbehalt in der Werthung fordert, und für dessen Lösung diese meine Untersuchungen gewiss keinen Anspruch erheben.

Vergleichende bacteriologisch-chemische Untersuchungen über das Verhältnis des Bacillus der Cholera-Massaua zum Vibrio Metschnikovi und zum Koch'schen Kommabacillus.

Von

Dr. med. **St. Rontaler.**

Eine übrigens in der Natur der Sache begründete Erscheinung in der Bacteriologie ist die Unsicherheit der Diagnostik der einzelnen Bacterienarten. Bei der Kleinheit der Mikroben lässt uns selbst das verbesserte Mikroskop und die moderne mikroskopische Technik öfters im Stiche und es ist nun naturgemäss, dass für die Zwecke der bacteriologischen Diagnostik auch die chemischen und physikalischen Untersuchungsmethoden herangezogen werden.

Dass auch dann der Zweck nicht immer erreicht wird, dafür liefert die Geschichte des Eberth-Gaffky'schen Typhusbacillus ein lehrreiches Beispiel. Anfangs, durch sein Wachsthum auf Kartoffeln, grosse Beweglichkeit u. s. w., als sehr charakteristisch und leicht kenntlich beschrieben, wurde er namentlich von französischen Autoren, wie Rodet, Richet, und Roux[1]), Arloing[2]), Malvoz[3]) als in seinen Eigenschaften durchaus dem Bacterium

1) Rodet et Richet, Des rapports du bacille coli com. avec le bac. d'Eberth (Journ. des conaiss. médic., 1890), Rodet et Roux, Bac. coli com., bac. d'Eberth et fièvre typhoïde (La province méd., 1891, Nr. 43), Bac. d'Eberth et bac. coli. Expér. compar. (Arch. de méd. exp., 1892, Nr 3).

2) Rapport du bac. coli avec le bac. d'Eberth (Lyon méd., 1891, Nr. 45).

3) Réch. bactériol. sur la fièvre typh. (Mem. de l'acad. de méd. de Bruxelles, 1892, XI, f. 5.

coli commune ähnlich, wenn nicht damit identisch proclamirt. Mehr wie ein Dutzend Publikationen pro und contra sind in dieser Streitfrage erschienen, ohne dass sie endgültig erledigt wurde. Die verschiedenen Ansichten und die darauf bezügliche Literatur findet man in dem inhaltreichen Buche von Remy und Sugg.[1])

Aehnliche Streitfragen herrschen augenblicklich auch bezüglich des Koch'schen Cholerabacillus. Seit der Entdeckung dieses Mikroben durch Koch (1883) wird sein ätiologischer Zusammenhang mit der asiatischen Cholera wohl von Niemandem ernstlich bestritten. Die fortgesetzten Untersuchungen haben aber gezeigt, dass in der Natur eine ganze Reihe dem Koch'schen Cholerabacillus ähnlicher Mikroben existirt, wovon einige auch als identisch damit angesehen wurden.

Kurz nach der Entdeckung des Koch'schen Kommabacillus haben Finkler und Prior[2]) ein ihm ganz ähnliches, kommaartiges Stäbchen in sieben Fällen von Cholera nostras in menschlichen Dejectionen gefunden, das sie mit dem Koch'schen Bacillus für identisch hielten, bis Koch[3]) die Unhaltbarkeit dieser Annahme nachwies, indem er darauf aufmerksam machte, dass die morphologischen Eigenschaften ähnlicher Bacillen nicht maassgebend sind, und hervorhob, dass das Verhalten derselben auf verschiedenen künstlichen Nährböden, insbesondere auf Gelatine, uns erst ein diagnostisches Kriterium gibt.

Ich erinnere noch an andere, beim Menschen gefundene Kommabacillen, wie die von Miller[4]), Kuisl[5]), Nicati und Rietsch[6]), Escherich[7]), Weibel[8]), Bleisch[9]), Fischer[10]).

1) Réch. sur le bac. d'Eberth Gaffky (Trav. du labor. d'Hyg. Gand 1893. Tome I f. 2.

2) Deutsche med. Wochenschr., 1884, Nr. 36.

3) Deutsche med. Wochenschr., 1884, Nr. 45.

4) Deutsche med. Wochenschr., 1884, Nr. 25 u. 36; 1885, Nr. 9.

5) Münchn. ärztl. Intelligenzbl., 1885, Nr. 36.

6) Arch. de physiol., XVII., 1885, p. 72.

7) Münchn. med. Wochenschr., 1886, Nr. 1, 43, 46.

8) Centr. f. Bact., Bd. II, 1887, Nr. 16.

9) Zeitschr. f. Hyg., Bd. XIII, 1893.

10) Deutsche med. Wochenschr., 1893, Nr. 23—26.

Fast zu gleicher Zeit mit den Bacillen von Finkler-Prior und Miller wurde von Deneke[1]) im alten Käse ein dem Koch'schen ähnlicher Kommabacillus gefunden. Alle diese Kommabacillen verhalten sich aber auf künstlichen Nährböden anders, als die Koch'schen, so dass sie leicht von diesen unterschieden werden können.

Grosses Aufsehen erregte der, durch seine pathogene Wirkung auf Meerschweinchen und Tauben ausgezeichnete Kommabacillus von Gamaleia[2]), von ihm Vibrio Metschnikovi genannt. Dieser Vibrio wurde von Gamaleia bei einer Geflügelkrankheit, die mit Symptomen der Hühnercholera verlief, gefunden. Diese Krankheit wurde von demselben Gastroenteritis cholerica genannt.

Das Thierexperiment bewies, dass Tauben für diesen Vibrio sehr empfänglich sind. Gamaleia[3]) tödtete Tauben bei subcutaner resp. intramusculärer Infection von Culturen dieses Vibrio, die durch Uebertragung von Taube zu Taube virulenter wurden, stets in acht bis zwölf Stunden. Vom Darmkanal[4]) aus konnten Tauben selbst durch Verfütterung grosser Mengen von Culturen nicht inficirt werden. Nur junge Hühner[5]) konnten auf diese Weise inficirt werden.

Pfeiffer[6]) inficirte intramusculös Tauben; der Tod trat in 20 Stunden ein; er fand, wie Gamaleia, Vibrionen massenhaft im Blut und Organen, dagegen spärlich im Darminhalt. Per os konnte er Tauben ebenfalls nicht inficiren, auch wenn vorher für Neutralisirung des Magen- und Kropfinhaltes gesorgt war; die Infection per os gelang ihm bei Tauben nur ausnahmsweise.

Palmirski[7]) fütterte junge und alte Hühner, ebenso Tauben mit Linsen, die mit Culturen des Vibrio Metschnikovi begossen waren; diese Vögel wurden durch den Darmkanal nicht inficirt.

1) Deutsche med. Wochenschr., 1885, Nr. 3.

2) Annales de l'Inst. Pasteur, 1888, Nr. 9 u. 10; 1889, Nr. 10, 11 u. 12.

3) Annales, 1888, p. 485.

4) Annales de l'Inst. Pasteur, 1888, p. 485; 1889, p. 629.

5) Annales, 1888, p. 485; 1889, p. 628, 631.

6) Zeitschr. f. Hyg., Bd. VII, 1889, S. 347.

7) Medycyna, 1893, Nr. 30 (polnisch); Arch. des sciences biolog. St. Pétersbourg, 1893, II. B., p. 501.

Meerschweinchen[1]) sind für den Vibrio Metschnikovi sehr empfänglich, können sogar vom Nahrungskanal aus inficirt werden. Gamaleia fand bei solcher Applicationsart Vibrionen im Herzblut und im Darminhalt. Bacillen fand Pfeiffer[2]) in der Oedemflüssigkeit an der Infectionsstelle, im Blut und Organen, im Darm spärlicher. Bruhl[3]) rief bei Meerschweinchen durch subcutane Infection von Thymusculturen des Vibrio Metschnikovi den Tod in 18 bis 24 Stunden hervor. Die Section erwies dabei immer eine Septichämie. Wolkow[4]) sah bei intraperitonealer Infection von Meerschweinchen sehr viele Vibrionen im Peritonealexsudat, im Blut dagegen verhältnismässig weniger.

Gamaleia[5]) behauptete nun, dass bei jeder Infectionsart, sei es subcutan oder intramusculär oder intraperitoneal, eine Praedilection für die Darmlocalisation der Vibrionen existirt, indem er immer bei Sectionen Hyperämie des gesammten Darmtractus mit einem reichlichen flüssigen Inhalt und in demselben Bacillen constatiren konnte. Er meint aber, dass die Infection durch Aufnahme des Krankheitserregers per os nicht die natürliche sein kann[6]), da für diesen Vibrio besonders empfängliche Vögel, wie Tauben und ältere Hühner, per os nicht inficirt werden können. Er nimmt nun an, dass die Lungeninfection die natürliche Infectionsart[7]) ist, und hat sogar die widerstandsfähigsten Thiere wie Kaninchen[8]), durch directe Infection von Culturen des Vibrio Metschnikovi in die Trachea, resp. in die Lungen, zu Grunde gehen gesehen und dabei constatirt, dass bei dieser Infectionsart, ebenso wie bei jeder anderen, Vibrionen sich hauptsächlich im Darmkanale vermehren[9]). Bei der Lungeninfection entsteht nun

1) Annales, 1888, p. 486.
2) a. a. O.
3) Archive de médec. exper., 1893, Nr. 1.
4) Arch. de méd. exp., 1892, IV, p. 660.
5) Annales, 1888, p. 486, 555, 556; 1889, p. 635, 637, 641.
6) Annales, 1888, p. 554; 1889, p. 635.
7) Annales, 1888, p. 556; 1889, p. 635, 637.
8) Annales, 1889, p. 547, 609, 614, 615, 636.
9) Annales, 1888, p. 555, 556; 1889, p. 635, 637, 641.

ein pleuritisches Exsudat, das hochgradig virulente Bacillen enthält. Diese virulenten Vibrionen sollen sogar die sonst immunen Hunde und Schafe tödten.

Gamaleia[1]) behauptet, dass die Virulenz der aus dem pleuritischen Exsudat gewonnenen Metschnikov'schen Vibrionen noch hochgradiger wird, wenn das durch Lungeninfection entstandene pleuritische Exsudat weiter intacten Thieren intrapulmonär verimfpt wird, also durch mehrmalige Passage von Thier zu Thier, dann soll schliesslich ein halber Tropfen genügen, um Kaninchen in 3 bis 5 Stunden zu tödten. — Eine ähnliche Virulenzsteigerung wollte Gamaleia[2]) bei Bacillen der Cholera asiatica durch Passage von Meerschweinchen auf Tauben constatirt haben. Tauben mit 1 bis 2 Tropfen des durch mehrmalige Passage hochvirulent gewordenen Taubenblutes geimpft, starben in 8 bis 10 Stunden. Noch kleinere Dosen tödteten Meerschweinchen. Die erhöhte Virulenz der Cholerabacillen durch Passage wurde auch später von Gamaleia[3]) bei Experimenten mit Hunden constatirt; ebensolche Resultate wurden von Zaeslein[4]), Haffkine[5]) Wlaeff[6]), Parlowski[7]) u. A. verzeichnet.

Eine Virulenzsteigerung der Cholerabacillen bemerkte Gamaleia[8]) bei weissen Ratten, die durch die Thoraxwand eine Lungeninfection erlitten haben.

Auf Grund der Aehnlichkeit des Vibrio Meschnikovi mit dem Koch'schen Kommabacillus in Betreff der morphologischen und biologischen Eigenschaften und des pathogenen Verhaltens hatte Gamaleia[9]) die Meinung ausgesprochen, dass beide Bacillen nur zwei physiologische Variäteten einer und derselben Species sind. Der Koch'sche Bacillus ist, nach Gamaleia mehr

1) Annales, 1889, p. 548, 610, 614, 615, 636.
2) Sem. méd., 1888, Nr. 34.
3) Gazette méd., 1892, Nr. 4.
4) Rivista clinica, 1890.
5) La sem. méd., 1892, Nr 32; Le bull. méd., 1892, Nr. 58, 61.
6) Wratsch (russisch), 1893, Nr. 39.
7) Russkaja medizina (russisch), 1893, Nr. 8.
8) Annales, 1889, p. 612.
9) Annales, 1888, p. 487, 552; 1889. p. 642.

dem menschlichen Organismus angepasst und in Indien einheimisch, der Vibrio Metschnikovi dagegen in Europa zu Hause. Derselben Meinung ist Bruhl[1]), der einfach seine Schlussfolgerungen über den Vibrio Metschnikovi auf den Koch'schen überträgt.

Einen Beweis dafür wollte Gamaleia[2]) in dem Umstande finden, dass man mit Culturen des Koch'schen Bacillus eine Immunität gegen den Vibrio Metschnikovi und umgekehrt gegen den Koch'schen mit dem Metschnikov'schen erzielen kann. Dieselben Erfolge mit der gegenseitigen Immunitirung dieser zwei Vibrionen hat in neuester Zeit auch Palmirski[3]) verzeichnet.

Gamaleia[4]) fand auch Beziehungen zwischen Cholera nostras und dem Vibrio Metschnikovi, indem er junge Hühner mit Reisswasserstühlen an Cholera nostras erkrankter Menschen fütterte und bei ihnen Gastroenteritis cholerica constatirte, indem er bei denselben den Vibrio Metschnikovi nachweisen konnte.

Ebenso hat Sawtschenko[5]) fast in allen von ihm bacterieologisch untersuchten Choleraleichen neben dem Koch'schen Bacillus einen dem Vibrio Metschnikovi in seinem Verhalten auf Tauben ähnlichen Bacillus, der Meerschweinchen und Tauben im Laufe von 24 Stunden tödtete, gefunden.

Diese letzten Angaben dienten Gamaleia[6]) als Beweis, dass Vibrio Metschnikovi auch beim Menschen vorkommen kann.

Gegen die Auffassung Gamaleia's, dass der Koch'sche Cholerabacillus durch Umzüchtung dieselbe Virulenz wie der Vibrio Metschnikovi für Tauben acquiriren kann, traten zuerst R. Pfeiffer und Nocht[7]) entgegen. Von diesen Autoren wurde keine Steigerung der Virulenz vermittelst Passage durch Tauben constatirt. Ja, es wurde von ihnen nachgewiesen, dass die Cholera asiatica fast gar keine Virulenz auf Tauben besitzt.

---

1) Arch. de méd. exp., 1893, Nr. 1.
2) Annales. 1888, p. 487, 553.
3) Gazeta lekarska (polnisch), 1893, Nr. 38, 39.
4) Annales, 1888, p. 488.
5) Wratsch (russisch), 1892, Nr. 45; 1893, Nr. 1.
6) Aethiologie der Cholera. Dissertation (russisch). St. Petersburg, 1893.
7) Zeitschr. f. Hyg., 1889, Bd. VII, S. 259.

Eine direkte Uebertragung der Cholera von Taube zu Taube durch Ueberimpfung des bacillenhaltigen Organsaftes, sowie des Blutes, ist ihnen niemals gelungen. Die Tauben sind der Cholerainfection unzugänglich; man kann somit von einer Immunität der Tauben gegen die Cholerainfection reden.

Friedrich[1]) hat mit Choleraculturen verschiedener Herkunft gearbeitet und constatirte ebenfalls eine Unempfänglichkeit der Tauben für Cholera asiatica.

Ueber die Umzüchtung der Cholerabacillen durch mehrmalige Passage von Thier zu Thier bemerkten Gruber und Wiener[2]), dass durch Passage von Thier zu Thier, trotzdem die Impflüssigkeit massenhaft Vibrionen enthielt, die Virulenz doch abgeschwächt wurde, und meinen, dass eine Choleracultur nur für kurze Zeit im Organismus ihre volle Virulenz erhalten kann.

Was die Virulenzsteigerung der Koch'schen Cholerabacillen durch Lungeninfection anbetrifft, so werden von Bruce[3]) ebenfalls an weissen Ratten Nachuntersuchungen angestellt. Er konnte keine besondere Virulenzsteigerung der Cholerabacillen bei der Lungeninfection bemerken.

Pfeiffer[4]) controlirte auf Meerschweinchen auch die Schutzimpfungsversuche Gamaleia's. Es erwies sich dabei, dass keine wechselseitige Immunisirung zwischen den beiden Vibrionen existirt. Meerschweinchen mit Cholera asiatica vorbehandelt, starben nach der Infection mit dem Vibrio Metschnikovi an Gastroenteritis cholerica und umgekehrt die gegen Vibrio Metschnikovi immunisirten Meerschweinchen waren gar nicht gegen den Bacillus der Cholera asiatica immun. Es bestand nur beim Vibrio Metschnikovi allein die Möglichkeit der Immunisirung. Indem man mit sterilisirten Culturen von Vibrio Metschnikovi in geringer, nicht tödtlicher Dosis, wiederholt Meerschweinchen resp.

1) Arb. aus d. kais. Gesundheitsamt, 1892, Bd. VIII, S. 125.
2) Arch. f. Hyg., Bd. XV, S. 241.
3) Centr. f. Bact., 1891, Bd. IX, Nr. 24.
4) Zeitschr. f. Hyg., 1889, Bd. VII, S. 347.

Tauben inficirt, kann man sicher sein, dass dann eine Immunität gegen die Wirkung der lebenden Vibrionen erzielt wird. In Betreff des letzten Punktes wurden auch von Gamaleia[1]), Bruhl[2]), Metschnikoff[3]) Sanarelli[4]) positive Resultate erhalten.

Wenn wir noch von den in der letzten Choleraepidemie zahlreichen im Fluss- und Brunnenwasser von Günther[5]) (Vibrio aquatilis), Weibel[6]), Fokker[7]), Bujwid und Orlowski[8]) Bacillus choleroïdes α und β), Kiessling[9]), Russel[10]), Loeffler[11]), Heider[12]) (vibrio danubicus), Neisser[13]) (Vibrio berolineus), Blachstein[14]) Sanarelli[15]) — absehen, so verdient unter den Kommabacillen der zuerst von Pasquale[16]) aus Stühlen von Cholerakranken, während der starken Ende 1890 in Massaua grassirenden Choleraepidemie, isolirte Bacillus, der später unter dem Namen Cholera-Massaua-Bacillus bekannt wurde, ganz besondere Beachtung. Dieser Bacillus ist nach Pasquale mit dem Koch'schen nicht identisch. Pasquale bemerkte, dass junge Culturen der Cholera Massaua keine Cholerarothreaction gaben, während bei den jüngsten Culturen des Vibrio Metschnikovi dieselbe immer positiv ausfiel.

Auf morphologischem Wege ist eine Identität resp. Nichtidentität mit dem Koch'schen Bacillus nicht festgestellt. —

1) Annales de l'Inst. Pasteur, 1889, Nr. 10.
2) Gaz. méd., 1892, Nr. 36.
3) Annales de l'Inst. Pasteur, 1891, p. 465.
4) Dasselbe, 1893, Nr. 3, p. 236.
5) Deutsche med. Wochenschr., 1892, Nr. 49.
6) Centr. f. Bact., 1893, Bd. XIII. S. 117.
7) Deutsche med. Wochenschr., 1893, Nr. 7.
8) Medycyna (polnisch), 1893, Nr. 12; Centr. f. Bact., 1893, Bd. XIII, p. 120.
9) Arb. aus d. kais. Gesundheitsamt, 1893, S. 430.
10) The Lancet, 1892, p. 1268.
11) Centr. f. Bact., 1893, Bd. XIII, S. 384.
12) Centr. f. Bact., 1893, Bd. XIV, S. 341.
13) Hyg Rundschau, 15. August 1893.
14) Annales de l'Inst. Pasteur, 1893, Nr. 10.
15) Dasselbe, 1893, Nr. 10.
16) Giornale med. del R. Esercito, 1891, XXXIX, p. 1009—1031.

Experimentell hat sich zuerst Vincenzi[1]) mit dieser Cultur beschäftigt und bemerkte, dass Tauben sich gegen diese Culturen ebenso wie gegen Vibrio Metschnikovi verhalten. Tauben, intramusculär inficirt mit einer Oese einer Agarcultur, starben im Laufe von 20 Stunden; Bacillen waren immer im Blut und Darm nachweisbar, massenhaft in den ödematösen Muskeln.

Meerschweinchen, subcutan mit einem Tropfen Cholerabouilloncultur inficirt, starben unter charakteristischen Symptomen der Choleraintoxication in 24 Stunden. Es entstand dabei an der Infectionsstelle ein collosales Oedem. Intraperitoneale Injectionen von Culturen der Cholera-Massaua in minimalen Mengen bewirkten bei Meerschweinchen den Tod in kurzer Zeit. Die Infection direct vom Darm aus ist Vincenzi an Meerschweinchen niemals gelungen. Sie gelang nur in den Fällen, wenn der Darm sei es mechanisch oder chemisch entweder nach Koch mit Tint. opii, resp. nach Doyen[2]) mit Alkohol gereizt wurde. Dann fand er bei Sectionen massenhaft Bacillen im Darminhalt; der Befund im Blut war negativ.

Vincenzi immunisirte mit sterilisirten Culturen Meerschweinchen gegen Cholera Massaua. Diese Meerschweinchen waren aber gegen Vibrio Metschnikovi nicht immun.[3])

Auf Grund seiner Untersuchungen bezeichnet Vincenzi diesen Bacillus als einen Kommabacillus einer sehr virulenten Cholera (un bacillo del colera virulentissimo). Es ist, nach ihm, keine aparte Species (non una varietà distincta[4]).

Sclavo[5]) dagegen ist auf Grund des Verhaltens dieses Bacillus gegen Tauben, auf Grund der geringen Krümmung der Bacillen und einer Neigung, lange Fäden zu bilden, — der Meinung, dass dieser Bacillus mit dem Koch'schen Bacillus nicht identisch ist und eine besondere Spirille darstellt, die näher dem Vibrio Metschnikovi als dem Koch'schen Bacillus steht.

1) Archivio per le scienze mediche, 1892, XVI, f. 3, p. 327—339.
2) Arch. de physiol., 1885. Thèse de Paris.
3) Arch., p. 338.
4) a. a. O., S. 330.
5) Riv. d'Igiene, 1892, Nr. 19, p. 168.

Die hochgradige Heftigkeit der Cholera Massaua für Meerschweinchen betonten Brieger, Kitasato und Wassermann[1]. Sie experimentirten mit derselben Cultur, die Vincenzi von Pasquale erhalten hat, Mit derselben Cultur beschäftigte sich auch Pfeiffer[2]).

Gruber und Wiener[3]) arbeiteten mit 5 Choleraculturen aus verschiedenen Bezugsquellen. Am virulentesten fanden sie für Meerschweinchen die von R Pfeiffer zugeschickte Massauacultur.

Im biologischen Verhalten wurden die Bacillen der Cholera-Massaua von Nencki und Sieber[4]) untersucht. Das Wachsthum in Bouillon und in der Gelatine ist viel üppiger, als bei den Koch'schen Bacillen. Die Bouillonculturen zeigen in kurzer Zeit eine Trübung bei Bruttemperatur, wobei sich ein Niederschlag bildet. Das Häutchen ist an der Oberfläche des Bouillons viel weniger ausgebildet, wie bei den Koch'schen Kommabacillen.

Aehnliche Ergebnisse notirte Sclavo[5]) über den Vibrio Metschnikovi. Die Bouillonculturen desselben werden nach Sclavo in kurzer Zeit trübe. Pane[6]) dagegen hat zuerst die Beobachtung gemacht, dass der Vibrio Metschnikovi in Bouillonculturen ein Häutchen bildet, das bald auf den Boden des Reagensglases sich absetzt.

Weiter zeigten Nencki und Sieber, dass die Gelatinestichculturen des Massauabacillus sich viel schneller verflüssigen, als diejenigen des Koch'schen. Nach 3 bis 4 Wochen werden die anfangs alkalisch-reagirenden Gelatineculturen neutral, resp. sauer, was niemals bei Cholera asiatica zu constatiren ist. Die Cholerarothreaction fällt gelblich aus, ähnlich dem Vibrio Metschnikovi, während dieselbe bei Cholera asiatica rein roth erscheint.

---

1) Zeitschr. f. Hyg., S. 158, 159.
2) Zeitschr. f. Hyg., Bd. XI, S. 393.
3) Wiener klin. Wochenschr., 1892, Nr. 38; Arch f. Hyg., 1892, Bd. XV, S. 254.
4) Arch. des sciences biol. St Pétersbourg, 1893, II, p. 117.
5) Rivista d'Igiene, 1892, III, p. 509.
6) Rivista clinica e terap., Napoli, 1892, XV, Nr. 7, p. 385.

Sehr interessant waren die experimentellen Untersuchungen von Vincenzi[1]) über Choleraculturen, die er von Professor Weichselbaum in Wien erhalten hat. Sie stammten von einem in Wien am 27. October 1892 vorgekommenen Falle. Tauben und Meerschweinchen wurden durch minimale Mengen von Cholerbacillen getödtet. Subcutane Injection tödteten Meerschweinchen in 12 bis 24 Stunden. Vincenzi erhielt mit dieser Wiener Cultur dieselben Resultate, die er über die Massaua-cultur veröffentlichte.

Sehr auffallend ist bei diesen letzten zwei Culturen die Möglichkeit der Infection durch subcutane Injection, während bekanntlich von Seiten des Bacillus der Cholera asiatica dies niemals geschieht, wie es zuerst Nicati und Rietsch[2]), und neuestens Nencki[3]) und seine Schüler Blachstein, Schubenko und Zumft[4]) gezeigt haben.

Wie man sieht, ist die Frage, ob der von Koch bei der Cholera asiatica aufgefundene Kommabacillus eine für sich sichere Species bildet, oder ob er mit dem Bacillus der Cholera-Massaua oder, wie Gamaleia behauptet, mit dem Vibrio Metschnikovi identisch ist, eine unentschiedene, resp. sie wird als unentschieden discutirt.

An der Streitfrage bezüglich der Identität des Eberth-Gaffky-schen Typhusbacillus mit dem Bacterium coli commune hat ein Schüler von Prof. Nencki, Dr. Blachstein[5]), Antheil genommen und suchte durch Untersuchung der Zersetzungsproducte aus Eiweiss oder Traubenzucker nach irgend welchen für die eine resp. andere Spaltpilzart charakteristischen Producten. Dies ist ihm auch gelungen, indem er fand, dass im Gegensatz zu anderen dem Bac. typhi ähnlichen Mikroben, welche aus Zucker, sei es optisch inactive, sei es die optisch active, die sog. Rechts- resp.

---

1) Deutsche med. Wochenschr., 1893, Nr. 18.

2) Revue de méd., XV, 1885, Nr. 6.

3) Wratsch (russisch), 1893, Nr. 1; Gazeta lekarska (polnisch), 1893, Nr. 2; Arch. des scienc. biol., 1893, II, p. 115.

4) Wratsch (russisch), 1892, Nr. 41; Arch. d. sc. biol, 1893, II, p. 95.

5) Arch. d. sc. biol. St. Pétersbourg, 1892, p. 199.

Fleischmilchsäure bilden, der Eberth-Gaffky'sche Typhusbacillus aus dem Traubenzucker die optisch active, aber linksdrehende Milchsäure bildet.

Es war daher von Wichtigkeit, das Verhalten der beiden, dem Koch'schen Bacillus am meisten ähnlichen Bacillen, nämlich des Vibrio Metschnikovi und des Bacillus der Cholera-Massaua, gegen eiweiss- und zuckerhaltige Nährlösungen zu untersuchen. Gleichzeitig habe ich unter denselben Bedingungen auch durch den Koch'schen Vibrio Eiweiss und Zucker zersetzen lassen, um so diagnostische Merkmale für die Verschiedenheit oder Identität dieser Mikroben zu gewinnen.

Eiweisszersetzung.

Bei unseren vergleichenden Untersuchungen haben wir uns bemüht, immer unter denselben Bedingungen zu arbeiten.

Die Zusammensetzung der Nährböden, sowie die Art des Eiweisses waren für jede Reihe von Versuchen dieselben, und zwar für die erste Reihe von Experimenten haben wir für den Bacillus der Cholera-Massaua, für den Vibrio Metschnikovi, sowie für den Koch'schen Kommabacillus eine Nährlösung vorbereitet, die aus Pepton. sicc. Witte (2%) bestand. Gewöhnlich wurden die Kolben mit 2 l der Nährlösung angefüllt. Nach der Auflösung des Peptons durch Kochen auf einem Wasserbade wurde die Lösung filtrirt und Na_2CO_3 bis zur schwachalkalischen Reaction zugesetzt. Die Flüssigkeit wurde dann entweder im Autoclaven bei 117° 20 Minuten oder im Koch'schen Sterilisator bei 100° eine Stunde lang sterilisirt.

Ausser Pepton wurde auch Ochsenlunge zu Nährlösungen gebraucht. Mit der Lunge wurden ebenfalls vergleichende Untersuchungen angestellt. Von der Lunge wurde die Pleura abgelöst und dann die Lunge in kleine Stücke zerhackt. Auf 2 l Wasser wurden 500 g zerhackte Lunge in Kolben gethan. Die Kolben mit diesem Inhalt wurden dreimal sterilisirt. Die Lunge erwies sich als ein sehr guter Nährboden schon deshalb, weil es unnöthig war, Na_2CO_3 hinzuzufügen, da die Reaction selbst schon alkalisch war.

Wir haben in gleicher Weise auch eine Reihe vergleichender Untersuchungen mit Culturen, die auf Blutalbumin (5 %) resp. Eiereiweiss (5 %) gezüchtet waren, unternommen. Blutalbuminnährlösungen wurden zweimal sterilisirt. Eiereiweisslösungen wurden vor der Impfung eine Woche lang bei 55° C. in einem aparten Thermostaten sterilisirt.

Nach der Abkühlung des sterilisirten Kolbens wurde die Impfung mit 3—5 ccm einer Reincultur der zu untersuchenden Bacillenart vorgenommen, wobei vor der Impfung jedesmal die Cultur auf ihre Reinheit controlirt wurde.

Alle zu meinen Untersuchungen benutzten Culturen habe ich der Güte der Frau Dr. Sieber zu verdanken. Nach der Impfung wurden die Kolben in einem Thermostaten bei 37° C. constanter Temperatur ein Monat resp. länger aufbewahrt.

Zu diesen vergleichenden Studien wurden aerobe und anaerobe Culturen gezüchtet.

Für anaerobe Culturen wurden Kolben nur mit Lunge aufgestellt. Durch einen Guttaperchastöpsel wurden zwei Glasröhren durchgeführt. Das eine Rohr reichte fast bis zum Boden des Kolbens und war oberhalb des Stöpsels rechtwinklig abgeknickt. Das andere Rohr dagegen war nur in den Stöpsel eingesteckt; der äussere Theil desselben besass einen Quecksilberverschluss mit kugeligen Erweiterungen. Das Nähere hierüber findet man bei Nencki[1]). Nach der Sterilisation und Impfung des betreffenden Kolbens wurde das bis zum Boden des Kolbens reichende Rohr mittels eines Gummischlauches mit dem Kippeschen CO_2 - Apparat verbunden. Die CO_2 wurde durch den Kolben so lange durchgetrieben, bis die Probe mit Kali darauf deutete, dass nur die vom Kali absorbirbare CO_2 sich im Kolben befindet, die Luft dagegen ausgetrieben ist. Nachher wurde dies Rohr zugeschmolzen. Ein solcher Kolben wurde in den Thermostaten eingestellt.

Nach genügender Gährung wurde der betreffende Kolben bacteriologisch und chemisch untersucht. Vor der chemischen

1) Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss. in Wien, Bd. XCVIII, 1889, Mai.



Untersuchung wurde jedesmal die Cultur auf ihre Reinheit mikroskopisch und durch Ueberimpfungen auf künstliche Nährböden controlirt. Erwies sich die Cultur als unrein, so wurde sie weiter chemisch nicht untersucht. In gleicher Weise wurde jedesmal die Virulenz der Cultur durch Impfungen an Meerschweinchen und Tauben bestimmt.

Die chemische Untersuchung der Zersetzungsproducte wurde nach der Methode von Prof. Nencki[1]) vorgenommen.

Bacillus der Cholera-Massaua.

Wir arbeiteten mit zwei Culturen. Die eine stammte von Dr. Gamaleia, die andere von Prof. Vincenzi. Die Resultate, die wir mit diesen beiden Culturen erhalten haben, waren übereinstimmend. In gleicher Weise wurden aus den verschiedenen Eiweissarten dieselben Producte erhalten.

a) Aus aeroben Culturen:

Indol, Skatol, flüchtige Fettsäuren, Phenylpropionsäure und Spuren von Oxysäuren.

b) Aus anaeroben Lungenculturen:

Indol, Skatol, flüchtige Fettsäuren und eine höhere feste Fettsäure in kleinen Mengen.

Die flüchtigen Fettsäuren, die wir aus den aeroben und anaeroben Culturen erhielten, waren identisch.

Zur Bestimmung der Fettsäuren wurde zur Analyse deren Silbersalz genommen.

Silbersalz in Grammen	3,3417	2,8956	0,6048	0,4271	0,3356	0,3983
Nach dem Verbrennen Metallsilber in Grammen	2,1464	1,8580	0,3907	0,2759	0,2164	0,2561
Silber in %	64,23%	64,16%	64,6%	64,59%	64,45%	64,28%

CH_3COO Ag enthält 64,67% Ag.

Wir müssen also unser Silbersalz als Salz der Essigsäure auffassen.

1) Unters. über die Zersetzung des Eiweisses durch anaerobe Spaltpilze. Wien, 1889; Gazeta lekarska (polnisch), 1889, Nr. 37, 38.

Zur Bestimmung der Virulenz der Culturen nach beendeter Zersetzung wurden Impfungen an Meerschweinchen und Tauben vollzogen. Meerschweinchen wurde 1 ccm aerober Cultur subcutan resp. intraperitoneal injicirt. Sie starben nach 12 bis 16 Stunden. Die Section erwies eine hämorrhagische Durchtränkung des Peritoneums an der Injectionsstelle, ein seröses Exsudat in der Bauchhöhle, eine Hyperämie der Därme, der Dünndarm enthielt einen flüssigen Inhalt, das Colon ascendens, besonders aber das Coecum, war stark aufgetrieben, die Milz unvergrössert, blass, die Nieren dunkel gefärbt. Bacillen im Exsudat, im Herzblut, in den Organen und im Darminhalt. — Tauben starben nach 12 bis 24 Stunden, wenn sie 1 ccm einer aeroben Cultur erhalten hatten. Die Injection geschah gewöhnlich in den Musculus pectoralis. Die Section zeigte Oedem und Hyperämie des Muskels an der Injectionsstelle. Im übrigen Status idem, wie beim Meerschweinchen. In der ödematösen Flüssigkeit, im Herzblut, in den Organen und im Darminhalt sind immer Bacillen gefunden worden.

Diejenigen Meerschweinchen und Tauben, denen 1 ccm anaerober Cultur injicirt wurde, sind am Leben geblieben.

Vibrio Metschnikovi.

Die Cultur, mit der wir zu thun hatten, stammte von Frl. Dr. Schultz, Assistent an der bacteriologischen Abtheilung des k. Instituts für Experimental-Medicin in St. Petersburg.

Aus verschiedenen Eiweissarten erhielten wir dieselben Resultate.

a) Aus aeroben Culturen:

Indol, Skatol, flüchtige Fettsäuren, Phenylpropionsäuren und Spuren von Oxysäuren.

b) Aus anaeroben Culturen:

Indol, Skatol, flüchtige Fettsäuren und eine feste höhere Fettsäure in sehr geringer Quantität.

Die flüchtigen Fettsäuren der aeroben und anaeroben Culturen waren identisch.

Bestimmung der Fettsäure:

Ag-Salz in Grammen	0,1347	0,2372	0,3188
Metall-Ag nach dem Verbrennen	0,0747	0,1316	0,1766
Ag in %	55,45%	55,48%	55,39%

C_3H_7COO Ag fordert 55,38% Ag.

Wir haben es also mit der Buttersäure zu thun.

Meerschweinchen erhielten intraperitoneal 1 ccm einer aeroben Reincultur. Der Tod erfolgte nach 12 bis 24 Stunden. Die Section erwies ein seröses Exsudat in der Bauchhöhle, Hyperämie des Darmes mit flüssigem Inhalt, Milz unvergrössert. Bacillen im Exsudat, im Herzblut, in den Organen, im Darminhalt. — Tauben wurde 1 ccm einer aeroben Reincultur intramusculär injicirt. Tod nach 12 bis 18 Stunden. Die Section zeigte ein hochgradiges Oedem und Hyperämie des Muskels (M. pectoralis) an der Injectionsstelle. Milz nicht vergrössert. Darm stark injicirt. Bacillen an der Injectionsstelle, im Herzblut, in den Organen und im Darminhalt.

Anaerobe Culturen waren in oben angegebener Dosis für Meerschweinchen und Tauben unwirksam.

Kommabacillus Koch.

Zu unseren Versuchen dienten uns 2 Culturen. Die eine war aus Cholerastühlen von Dr. Blachstein in St. Petersburg während der letzten Epidemie isolirt, die andere, ältere, stammte von Prof. Koch.

Beide Culturen gaben uns dieselben Resultate.

a) Aus aeroben Culturen:

Indol und Skatol (in geringerer Menge, als beim Bacillus der Cholera Massaua), Fettsäuren in kleinen Quantitäten, Phenylpropionsäure und Spuren von Oxysäuren.

b) Aus anaeroben Culturen:

Indol, Skatol, Fettsäuren in kleinen Mengen, die sich sehr leicht verflüchtigten, eine höhere feste Fettsäure.

Die Quantitäten der flüchtigen Fettsäuren war sogar nach sehr langer Gährung (bis 100 Tage) so klein, dass man das Silbersalz gar nicht bestimmen konnte. Es waren stets nur Spuren von Fettsäuren nachweisbar. Die Quantität des Indols und Skatols war verhältnismässig geringer, als in den Culturen der Cholera Massaua.

Für Tauben war 1 ccm aerober resp. anaerober Cultur unschädlich. Alle blieben am Leben.

Ebenso war eine subcutane Injection bei Meerschweinchen unerreichbar. Die Lebensfähigkeit unserer Bacillen wurde durch Anlegung von Culturen auf den gebräuchlichen künstlichen Nährböden nachgewiesen.

Die Zersetzung des Traubenzuckers.

Zur Untersuchung der Zersetzungsproducte des Traubenzuckers wurde constant ein Nährboden von folgender Zusammensetzung gebraucht: Pepton. sicc. Witte, Rostock (2%), chemisch reiner Traubenzucker von Trommsdorf in Erfurt (5%) und $CaCO_3$ (3%). Der letzte wurde deshalb zugesetzt, um die bei der Gährung sich bildenden Säuren zu neutralisiren. In dieser Weise konnte stets die alkalische Reaction des Nährbodens erhalten werden, so dass die Kommabacillen sich gut vermehren konnten. — Nach dem Sterilisiren und nach der Impfung der betreffenden Cultur, standen die Kolben im Thermostaten bei constanter Temperatur (37^5 C.) 1 bis 3 Monate lang. Die Kolben wurden täglich umgeschüttelt, um die Neutralisation der sich etwa bildenden Säuren zu beschleunigen.

Vor der chemischen Analyse wurde stets eine bacteriologische Untersuchung vorgenommen.

Die Analyse der Zersetzungsproducte wurde nach der Methode von Professor Nencki[1]) ausgeführt.

Bacillus der Cholera-Massaua.

Beide von uns schon erwähnten Culturen gaben dieselben Producte bei aerober und bei anaerober Züchtung,

1) Die isomeren Milchsäuren als Erkennungsmittel einiger Spaltpilze (Centr. f. Bact., 1891, IX, S. 305).

Es wurden als Zersetzungsproducte Fettsäuren und Milchsäure erhalten. Indol und Skatol waren sehr spärlich.

Bestimmung der Fettsäuren:

	aerobe Cultur	anaerobe Culturen		
Silbersalz in Grammen	0,1315	0,2018	0,3437	0,2240
Nach dem Verbrennen in Met. Ag. .	0,0823	0,1213	0,2069	0,1358
Ag in %	62,58%	60,1%	60,19%	60,6%

Es ist also ein Gemisch von Essig- und Buttersäure.

Bestimmung der Milchsäure:

Der Polarisationsapparat wies nach, dass wir es mit der optisch inactiven Milchsäure zu thun haben.

Die chemische Analyse ergab folgendes:

1. Zn-Salz der Milchsäure in Grammen	0,7016	1,1677	1,1014	0,6322	0,2489	0,2596
2. Nach der Trocknung bei 110°	0,5750	0,9643	0,9124	0,5224	0,2037	0,2128
3. Der Verlust an Krystallwasser in Grammen .	0,1266	0,2034	0,1890	0,1098	0,0452	0,0468
4. Der Verlust an Krystallwasser in %	18,04%	17,41%	17,11%	17,36%	18,11%	18,02%
5. Nach dem Verbrennen ZnO in Grammen . .	0,1922	0,3215	0,3085	0,1759	0,0681	0,0718
6. Nach dem Verbrennen ZnO in %	27,39%	27,28%	27,66%	27,54%	27,36%	27,65%

$(C_3H_5O_3)_2Zn + 2\,H_2O$ fordert 12,9% H_2O und 29,03% ZnO.
» $+ 3\,H_2O$ » 18,18% » » 27,27% »

Die erste Formel entspricht der optisch aktiven, die letzte dagegen der optisch-inactiven Milchsäure.

Wir haben also in unserem Falle das Vorhandensein von optisch-inactiver (Gährungs-) Milchsäure nachgewiesen. —

Tauben war 1 ccm. intramusculär injicirter Cultur unschädlich.

Vibrio Metschnikovi.

Derselbe bildete sehr viel Fettsäuren. Aus einem 2 Liter-Kolben konnte man bis 5 Gramm des Silbersalzes der betreffenden Fettsäure erhalten.

Bestimmung der Fettsäuren:

	anaerobe Culturen		aerobe Culturen	
1. Silbersalz in Grammen	2,3842	1,1677	0,4468	0,6924
2. Nach dem Verbrennen. Ag	1,4351	0,7078	0,2817	0,4342
3. Ag in %	60,19%	60,61%	63,04%	62,84%

Dies deutet auf ein Gemisch von Essig- und Buttersäure.

Milchsäure war niemals nachweisbar.

Tauben waren für 1 ccm. aerober resp. anaerober Cultur, intramusculär inficirt, immun.

Die injicirten Culturen waren lebensfähig, was durch Ueberimpfungen auf die üblichen künstlichen Nährböden nachgewiesen wurde.

Kommabacillus Koch.

Beide Culturen gaben dieselben Zersetzungsproducte.

Es wurden Spuren von Fettsäuren und eine Milchsäure nachgewiesen.

Bestimmung der Milchsäure:

1. Zn-Salz der Milchsäure	0,7176	0,3516	0,2144	0,1334
2. Nach der Trocknung bei 110°	0,5877	0,2876	0,1755	0,1091
3. Verlust an Krystallwasser	0,1299	0,0640	0,0389	0,0243
4. Verlust an Krystallwasser in %	18,24%	18,2%	18,14%	18,21%
5. Nach dem Verbrennen. ZnO	0,1960	0,0959	0,0587	0,0372
6. ZnO in %	27,29%	27,3%	27,37%	27,88%

Also wir haben die optisch-inactive Milchsäure gefunden, was auch durch den Polarisationsapparat bestätigt wurde.

In allen Culturen, die in einer Mischung von Traubenzucker und Pepton gezüchtet waren, war die Zersetzung des Peptons sehr gering. Indol und Skatol konnten nur dem Geruche nach nachgewiesen werden; die Reaction mit Pikrinsäure gelang niemals.

Hirschler[1]) behauptet, dass bei gleichzeitigem Vorhandensein von Kohlehydraten und Eiweissen, die letzteren nicht bis

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. X, 1893, p. 306.

zu den Oxysäuren und Indol zersetzt werden. In solchen Fällen fehlen die aromatischen Producte.

Sclavo[1]) bemerkt, dass der Koch'sche Bacillus aus Eiweiss bei Gegenwart von Zucker Indol in geringen Mengen bildet.

Gorini[2]) meint sogar, dass der Koch'sche Kommabacillus und der Vibrio Metschnikovi unter solchen Bedingungen kein Indol produciren.

Anderseits erklärt Hirschler[3]) die Abwesenheit der aromatischen Producte in solchen Fällen derart: die sich bildende Milchsäure wird durch $CaCO_3$ neutralisirt, wobei sich milchsaurer Kalk, der auf die Zersetzung des Eiweisses störend einwirkt, bildet. —

Was die Virulenz der aeroben und anaeroben Traubenzuckernährböden betrifft, bemerkten wir, dass der Bacillus der Cholera Massaua und der Vibrio Metschnikovi in solchen Nährböden sehr wenig virulent waren. Dasselbe lässt sich über die anaerob gezüchteten Lungenculturen sagen. —

Das Indol fanden Weil und Kitasato[4]) als Zersetzungsproduct des Koch'schen Kommabacillus. Phenol konnte von ihnen niemals nachgewiesen werden.

Lewandowski[5]) fand beim Koch'schen Kommabacillus und beim Vibrio Metschnikovi Indol als Zersetzungsproduct derselben. Phenol fehlte. Skatol wurde von diesem Autor gar nicht gesucht.

Ferran[6]) gab an, dass der Koch'sche Kommabacillus aus Milchzucker die optisch active (Para-) Milchsäure bildet. Ob es sich um eine links- oder rechtsdrehende Paramilchsäure handelte, wird von Ferran nicht angegeben.

Dies konnten wir nicht bestätigen, vielleicht deshalb, da wir mit Traubenzucker arbeiteten. —

1) Rivista d'Igiene e Sanità publica, Roma, 1892, III, p. 509.
2) Centr. f. Bact., 1893, Bd. XIII, S. 791.
3) a. a. O., S. 313.
4) Zeitschr. f. Hyg., 1890, Bd. VIII, S. 410.
5) Deutsche med. Wochenschr., 1890, Nr. 51.
6) Compt. rend. 115, 1892, p. 361.

In differenzial diagnostischer Hinsicht sind folgende Zersetzungsproducte hervorzuheben:

	Bacillus d. Cholera Massaua	Vibrio Metschnikovi	Kommabacillus Koch
I. Producte der Eiweisszersetzung	Indol und Skatol in grösseren Mengen als b. Koch'schen Kommabacillus	Indol und Skatol in mässigen Mengen	Indol und Skatol in geringeren Mengen als beim Bacillus d. Cholera Massaua
	Essigsäure	Buttersäure	Spuren von Fettsäuren
II. Producte der Traubenzuckerzersetzung	optisch inactive Milchsäure	Milchsäure fehlt	optisch inactive Milchsäure

Somit können wir folgende Schlüsse ziehen: der Bacillus der Cholera Massaua und der Koch'sche Kommabacillus, die dieselbe (optisch-inactive) Milchsäure bilden, stehen einander sehr nahe; der Unterschied besteht einzig in der Menge des sich bildenden Indols, Skatols und der Fettsäuren. Obwohl die Gährung beim Bacillus der Cholera Massaua verhältnismässig viel stärker vor sich geht, als beim Koch'schen Kommabacillus, so können wir diesen Moment als Unterscheidungsmerkmal nicht in Betracht ziehen, da bekanntlich die Gährung auch bei den Koch'schen Bacillen von verschiedener Herkunft und aus verschiedenen Epidemien verschieden ist. Die hochgradige Virulenz der Bacillen der Cholera Massaua gegen Meerschweinchen, sogar bei subcutaner Injection, die Giftigkeit derselben für Tauben, der Unterschied in der Zahl der Cilien[1]), das verschiedene Verhalten der beiden Bacillen gegen Desinfectionsmittel wie Theer[2]), erlauben uns jedoch nicht beide Bacillen zu identificiren.

Trotzdem halte ich es für angezeigt, mich in der Frage der Identität resp. Nichtidentität dieser beiden Bacillen eines entscheidenden Urtheils vorläufig zu enthalten, da meine Untersuchungen noch nicht als abschliessende zu betrachten sind.

1) Nicolle et Marax, Annales de l'Inst. Pasteur, 1893, Nr. 7.

2) Nencki et Sieber, Arch. des sciences biolog. St. Pétersbourg, 1893, II, s. Tabellen.

Was den Vibrio Metschnikovi anbetrifft, so halte ich auf Grund des obigen für möglich in dem Sinne mich zu äussern, dass er nichts, weder mit dem Koch'schen Kommabacillus, noch mit dem Bacillus der Cholera Massaua gemein hat.

Ich halte es für meine Pflicht auch an dieser Stelle dem hochverehrten Herrn Prof. Nencki für die freundliche Hilfeleistung bei der Ausführung dieser Arbeit meinen wärmsten Dank auszusprechen.

St. Petersburg 1892/93.

Experimentelle Studien über die Sandfiltration.[1])

Von

Prof. Dr. **Gustav Kabrhel.**

Gegen die herrschende Ansicht, dass die Sandfiltration auch bei einem rationellen Betriebe das vollständige Abfiltriren von pathogenen Keimen bewirkt, haben Piefke und Fränkel Einsprache erhoben.[2])

Dieselben haben es auf Grundlage von Versuchen gethan, bei welchen eine neue Methode angewendet wurde. Ihre Experimente bestanden nämlich darin, dass sie sich Sandfilter von kleinen Dimensionen hergestellt haben, an welchen sie aber den Vorgang der Filtration, wie dieselbe in der Praxis durchgeführt wird, vollständig nachzuahmen trachteten.

Mit Hilfe dieser Sandfilter haben Piefke und Fränkel Wasser nach Zusatz von Reinculturen von B. violaceus, B. typhi, V. cholerae filtrirt.

Sowohl das unfiltrirte als auch das filtrirte Wasser untersuchten die Autoren täglich auf die Zahl der in Reincultur zugesetzten Mikroben.

Diesen Versuchen zufolge lassen die Sandfilter doch einen, wenn auch geringen, Bruchtheil von Bacterien durch.

1) **Von dem Autor übersetzt** (böhm. **Kaiser-Franz-Josef-Akad., Bd. III**).

2) **Zeitschrift für Hygiene, Bd. VIII, S. 1.**

Das Verhältnis derjenigen Mikroben, welche durch das Sandfiltrum durchgelassen werden, zu jenen, welche in demselben festgehalten werden, schätzen Fränkel und Piefke auf 1000:1.[1])

Gegen die Versuche Piefke's und Fränkel's wurden aber von den technischen Fachmännern Krahn und Kümmel[2]) der Einwand erhoben, dass der Vorgang der Filtration bei den Versuchen der genannten Autoren doch nicht so vollständig nachgeahmt wurde, wie derselbe in der Praxis bei den Sandfiltern, deren Quadratfläche auch über 1000 qm beträgt, durchgeführt wird. Wenn also in den betreffenden Versuchen Bacterienkeime durchgelassen worden sind, so kann man daraus keine Schlussfolgerung hinsichtlich der grossen Wasserwerkfilter ziehen, sondern man muss es der nicht vollständig ausreichenden Nachahmung des Filtrationsvorganges zuschreiben.

Als hauptsächliche Gründe dieses Einwandes führen diese technischen Fachmänner folgendes an:

1. Fränkel und Piefke haben zur Herstellung ihrer Sandfilter ein Holzgefäss benützt, wogegen in der Praxis in Cement gebaute Reservoirs benützt werden. 2. Haben dieselben bei ihren Versuchen auch eine Filtrationsgeschwindigkeit von 300 mm. pro Stunde angewendet, was in der Wasserwerkpraxis niemals vorzukommen pflegt. 3. Haben die obengenannten Fachmänner Zweifel ausgesprochen, dass an den kleinen Sandfiltern Piefke's und Fränkel's mit jener nothwendigen gleichmässigen Filtrationsgeschwindigkeit und mit jenem allmähligen Wachsen des Filtrationsdruckes, von welchen Factoren, wie bekannt, der erzielte Filtrationseffect in eminenter Weise abhängt, gearbeitet wurde.

Wie ersichtlich, sind die Versuche Piefke's und Fränkel's von grosser Tragweite. Infolgedessen erschien es sehr wichtig, dieselben zu wiederholen.

Von der Gemeinde Prag aufgefordert, einige bacteriologische Versuche mit einem kleinen Sandfilter auszuführen, welche als

1) Vierteljahrschr. f. öffentl. Gesundheitspflege, Bd. XXIII, S. 55.

2) Vierteljahrschr. f. öffentl. Gesundheitspflege. Bd. XXIII, S. 38.

Basis zu einer eventuellen Projectirung von Sandfiltern zum Zwecke der Nutzwasserversorgung Prags dienen sollten, benützte ich diese Gelegenheit, um einige Versuche in der von Piefke und Fränkel angebahnten Richtung auszuführen.

Das kleine Sandfilter wurde von der Wasserwerkverwaltung, deren Chefingenieur J. Bubák ist, projectirt und von dem Ingenieur Herrn Fleissig in dem sogenannten Podoler Wasserwerke ausgeführt. Dem letzteren Herrn wurde auch die technische Leitung bei den hier zu beschreibenden Versuchen der I. und II. Serie in die Hände gelegt.

Was die Construction des Sandfilters betrifft, so muss Folgendes hervorgehoben werden:

Zur Herstellung des Filters wurde ein im Querschnitte kreisförmiges Reservoir von Eisen benützt, dessen innere Fläche mit einer in Cement gebauten Schichte versehen wurde. Der Durchmesser des Kreises betrug 2 m. Nach Ausmauerung der inneren Seite verkleinerte sich der lichte Durchmesser auf 1,85 m. Das Filtrationsmaterial bestand entsprechend den längere Zeit hindurch von der Wasserwerkverwaltung ausgeführten Versuchen aus folgenden Theilen.

Von unten nach oben gezählt:

1. Gleich auf der obersten Ziegelschichte, in welcher sich die Kanäle für das abgehende Wasser befanden, wurde eine 30 cm dicke Schichte von alten zerschlagenen Pflastersteinen (Quarzit) gelegt.

2. Dann folgte eine 20 cm dicke Schichte, welche aus feinerem Schotter und aus gröberem Sande, der ein grossmaschiges Sieb nicht mehr passiren konnte, zusammengesetzt war.

3. Dann folgte eine 30 cm dicke Schichte von gewaschenem und durch grossmaschiges Sieb geworfenen Moldausand.

4. Endlich kam eine 80 cm dicke Schichte von reinem, weissen Kieselsande.

Das Wasser wurde dem Sandfilter aus zwei seichten Absatzbassins, deren innere Fläche gleichfalls mit einer in Cement gebauten Schichte versehen wurde, zugeführt. In diesen Absatz-

bassins wurde das Wasser zuerst längere Zeit stehen gelassen, worauf es abwechselnd bald von dem einen, bald von dem anderen auf das Sandfilter kam. Die Röhre, durch welche das Wasser dem Filter zuströmte, war mit einem Wassermesser versehen und endigte mit einem Siebe, so dass das Wasser in Form von zahlreichen Tropfen auf die den Sand bedeckende Wassersäule fiel.

Die das filtrirte Wasser abführende Röhre war gleichfalls, um die Filtrationsgeschwindigkeit bestimmen zu können, mit einem Wassermesser versehen. Das Ablesen an den Wassermessern fand eine jede Stunde statt.

Um aber die Bestimmung der Filtrationsgeschwindigkeit möglichst correct zu erhalten und um die Kontrole gut ausüben zu können, wurde jede Stunde die zur Füllung eines geaichten grösseren Gefässes erforderliche Zeit festgestellt und daraus die Filtrationsgeschwindigkeit berechnet.

Zum Messen des Filtrationsdruckes diente ein auf der Oberfläche des Wassers im Sandfilter befindlicher Schwimmer, der vermittelst einer feinen, über eine Rolle führenden Kette mit einem auf einer in Centimeterskala gleitenden Zeiger verbunden war. Das Ablesen des Filtrationsdruckes fand gleichfalls stündlich statt.

Mit einem auf die beschriebene Weise construirten Sandfilter wurden Versuche ausgeführt, bei welchen gleichwie in den Experimenten Piefke-Fränkels direct vermittelst zugesetzter Reinkulturen untersucht wurde, ob die Sandfiltration sicher und fehlerfrei auf das Abfiltriren von Mikroben einwirkt.

Mit Durchführung dieser Versuche hat man aber nicht gleich nach Construirung des Sandfilters begonnen, wie dies in den Versuchen Piefke-Fränkel's geschehen ist, sondern es wurden zuerst Vorexperimente ausgeführt, um zu constatiren, ob überhaupt und unter welchen Umständen mit dem kleinen Sandfilter ein solcher Filtrationseffect zu erreichen ist, welcher bei grossen Filtrationsanlagen bei rationellem Betriebe zu Stande kommt.

Diese vorläufigen Versuche müssen näher besprochen werden, da dieselben den Schlüssel zur Erklärung der späteren, in

gewisser Hinsicht von den Experimenten Piefke-Fränkel's abweichenden Resultate bilden. Daneben wurden bei diesen Experimenten auch einige bemerkenswerthe Beobachtungen gemacht, so dass schon aus diesem Grunde sich die Beschreibung und Analyse derselben empfiehlt.

Mit diesen vorläufigen Versuchen, bei welchen die technische Leitung dem Herrn Ingenieur Fleissig anvertraut wurde, hat man den 7. IV. 1892 angefangen. Vor dem Beginne der Filtration wurde natürlich das Sandfiltrum, um die in den Poren enthaltene Luft auszutreiben, von unten mit Wasser gefüllt.

Vom 7. IV. 1892 ab wurden täglich bacteriologische Untersuchungen auf die Zahl der Bacterienkeime a) des Wassers in den Absatzbassins, b) des filtrirten Wassers ausgeführt.

Auf diese Weise wurden im ganzen 3 Serien von Versuchen ausgeführt.

Die 1. Serie dauerte vom 7. bis zum 23. April 1892.

An diesem Tage erreichte der Filtrationsdruck, welcher zur Erzielung der nothwendigen Filtrationsgeschwindigkeit nöthig war, die Höhe von 1112 mm In Folge dessen musste die obere verschlammte Sandschichte abgetragen werden.

Nach Beseitigung derselben hat man am 24. April angefangen, wieder mit dem Sandfilter zu arbeiten. Bacteriologische Untersuchungen während dieser Filtrationsperiode wurden bis zum 7. Mai ausgeführt. Dann liess ich zwar das Sandfilter weiter arbeiten, mit bacteriologischen Untersuchungen aber begann ich erst am 8. Juli 1892, an welchem Tage nach Abtragung der oberen verschlammten Sandschichte somit neue Filtrationsperiode eröffnet wurde. Die Versuche vom 7. bis zum 15. Juli bilden die 3. Serie.

Die in diesen 3 Serien erhaltenen Resultate der bacteriologischen Untersuchung sind in den folgenden 3 Tabellen übersichtlich eingetragen. (Folgt Tabelle I bis III auf Seite 328 und 329.)

Nun wollen wir zur Analyse der in den Tabellen enthaltenen Resultate übergehen.

Bei dem Umstande, als das Wasser vor der Filtration ca. 20 Stunden in den Absatzbassins stehen gelassen wurde, tritt vor Allem die Frage heran, ob nicht schon dieser Umstand einen günstigen Einfluss auf die Verminderung der Bacterienmenge des zu filtrirenden Wassers ausübt.

In dieser Hinsicht sind jene Versuche maassgebend, bei welchen das Wasser desselben Absatzbassins nach mehreren Stunden noch einmal bacteriologisch auf die Zahl der Bacterienkeime untersucht wurde. Die betreffenden Versuche sind in den obigen 3 Tabellen mit dem Zeichen { bezeichnet.

Tabelle I. (Serie I).

Datum	Zahl der Keime in 1 ccm des Moldauwassers im Absatzbassin Nr. 1	Zahl der Keime in 1 ccm des Moldauwassers im Absatzbassin Nr. 2	Zahl der Keime in 1 ccm des filtrirten Wassers	Durchschnittliche tägliche Filtrationsgeschwindigkeit	Filtrationsdruck
1892				m	cm
7. IV.	{ 117[1])	97[1])			
8. IV.	{ 70; (nach 24 Stunden)	537	5674	0,54	1
9. IV.	{ 2382	938	3063	1,21	1
10. IV.	{ 2276; (nach 24 Stunden)	{ 1030	2383	0,87	2
11. IV.	{ 1105	{ 990; (nach 24 Stunden)	2590	1,98	3,7
12. IV.	{ 998; (nach 24 Stunden) { 1038	2412	1359	2,48	3,9
13. IV.	{ 854; (nach 24 Stunden) { 1080	1247	1654	3,53	5,9
14. IV.	{ 1026; (nach 24 Stunden) { 3007	781	262	3,30	5,2
15. IV.	{ 2282; (nach 24 Stunden)	1025	183	2,29	6,4
16. IV.	1254	{ 1183	224	1,68	20,3
17. IV.	{ 20142	{ 8929; (nach 24 Stunden)	126	2,35	20,8
18. IV.	{ 5244; (nach 24 Stunden)	1629	453	2,37	28,3
19. IV.	1116	{ 1596	128	2,13	33,8
20. IV.	{ 1785	{ 1168; (nach 24 Stunden)	1375	2,27	43,3
21. IV.	{ 1184; (nach 24 Stunden)	1333	2942	2,76	62,6
22. IV.	{ 1134 { 743; (nach 24 Stunden)	650	2400	2,80	77,7
23. IV.	{ 1954 { 802; (nach 24 Stunden)	651	110	2,74	111,2

1) Dieses Wasser ist noch nicht das Moldauwasser; dasselbe wurde aus den Filtrirbrunnen des Podoler Wasserwerkes geschöpft.

Tabelle II. (Serie II).

Datum	Zahl der Keime in 1 ccm des Moldauwassers im Absatzbassin Nr. 1	Zahl der Keime in 1 ccm des Moldauwassers im Absatzbassin Nr. 2	Zahl der Keime in 1 ccm des filtrirten Wassers	Durchschnittliche tägliche Filtrationsgeschwindigkeit	Filtrationsdruck
1892				m	cm
25. IV.	781	636	205 17 Std. nach Beginn der II. Filtrationsperiod.	1,73	2,4
26. IV.	844; (nach 24 Stunden)	1047	69	1,64	3,5
27. IV.	858	791; (nach 24 Stunden)	75	1,92	4,2
28. IV.	883; (nach 24 Stunden)	821	72	1,92	5,1
29. IV.	876	1253	65	2,06	5,5
30. IV.	1003	995; (nach 24 Stunden)	69	3,11	7,7
1. V.	10597	1157	44	3,27	9,6
2. V.	5410 10370	7960	82	3,29	12,4
	Nachmittag um 1/2 2 Uhr hat man angefangen, das Wasser aus den Filtrirbrunnen des Podoler Wasserwerkes zur Filtration zu nehmen.				
3. V.	5410 (das zu Ende gehende Moldauer Wasser nach 24 Stunden)	526 (Wasser aus Filtrirbrunnen)	91	3,28	17,4
4. V.	410 164; (nach 24 Stunden)	247	143	3,27	25,2
5. V.	151	167	50	3,20	29,9
6. V.	178	98	22	3,15	29,3
7 V.	149	97	15	2,32	29,7

Tabelle III. (Serie III).

Datum	Bassin Nr. 1	Bassin Nr. 2	Keime filtr.	m	cm
1892				m	cm
8.VII.	1125	1646	36	1,37	10
9.VII.	1650	2325	42	1,52	14,5
10.VII.	862; (nach 24 Stunden)	750; (nach 19 Stunden)	39	1,94	17,5
11.VII.	567	1128	29	2,80	31
12.VII.	566	Fehler bei der bacteriol. Untersuchung	20	2,91	36
13.VII.	760	935	15	2,98	39
14.VII.	Fehler bei der bacteriol. Untersuchung	3975	23	2,87	44
15.VII.	1062	2072	19	3,01	49
16.VII.		947; (nach 24 Stunden)	22	2,96	51

In der folgenden Tabelle sind solche Wasserproben übersichtlich eingetragen.

Tabelle IV.

Zahl d. Bacterienkeime in 1 ccm d. Moldauwassers bei Füllung des Absatzbassins	Zahl d. Bacterienkeime in 1 ccm d. Moldauwassers nach eingetret. Sedimentation	Zahl d. Bacterienkeime in 1 ccm d. Moldauwassers bei Füllung des Absatzbassins	Zahl d. Bacterienkeime in 1 ccm d. Moldauwassers nach eingetret. Sedimentation
117	70	1 954	802
2 382	2 276	781	844
1 030	990	1 047	791
1 105	998	858	883
1 038	854	10 597	5 410
1 080	1 026	10 370	5 410
3 007	2 228	410	164
1 183	8 929	98	97
20 142	5 244	1 650	862
1 596	1 168	2 325	750
1 785	1 184	2 072	947
1 134	743		

Aus den tabellarisch mitgeteilten Resultaten kann man den Schluss ziehen, *dass regelmässig jenes Wasser, welches in dem Absatzbassin längere Zeit stehen geblieben ist, eine Verminderung der Bacterienkeime aufweist.*

Eine deutliche Ausnahme von dieser Regel zeigt das auf der 8. Zeile der betreffenden Tabelle angeführte Wasser, welches gegen Erwarten einen Zuwachs von 1183 zu 8929 Bacterienkeime zeigt. Dass sich die Zahl durch Vermehrung der ursprünglichen Mikroben vergrössert haben sollte, kann man in Anbetracht der übrigen Resultate kaum denken. Am wahrscheinlichsten scheint der Umstand hier im Spiele gewesen zu sein, dass ein Regen, der an diesem Tage nach längerer Pause eingetreten ist, den Staub aus den Brettern, mit welchen die Absatzbassins zugedeckt waren, mitgerissen hat.

Des weiteren kann man aus den in der letzten Tabelle eingetragenen Daten den Schluss ziehen, dass die Verminderung, welche als Folge des Stehenbleibens in den Absatzbassins zu

betrachten ist, desto grösser ausfällt, je mehr Bacterienkeime das ursprüngliche Wasser enthalten hat.

So sinkt die Zahl der Bacterien in dem Wasser

mit 20,142 auf 5244 pro 1 ccm
» 10,597 » 5410 » » »
» 10,370 » 5410 » » »

Die Verminderung in den eben hervorgehobenen Fällen ist somit sehr beträchtlich und beträgt 50 % bis 70 %.

Um diese Erscheinung zu erklären, muss man in Betracht ziehen, dass die betreffenden aus der Moldau geschöpften Wässer in Folge von herrschendem Regen sehr getrübt waren. In Folge dessen wird es ersichtlich, dass die die Trübung bedingenden Suspensionen, wenn man das Wasser ruhig stehen lässt, Gelegenheit haben zu sinken. Nun befinden sich an und in denselben, namentlich an denjenigen, welche aus organischen Substanzen bestehen, Mikroorganismen. Selbstverständlich müssen jene Mikroorganismen, welche auf gewisse Weise diesen organischen Substanzen adhäriren, denselben folgen. Des Weiteren kann man aber auch an active Sinkung der Mikroben in Folge von chemotactischen Vorgängen denken.

Da die getrübten Wässer verhältnismässig zahlreiche und leicht niederfallende Körperchen enthalten, ist begreiflich, dass bei den eine grössere Bacterienzahl enthaltenden Wässern nach der Sedimentation eine grössere Verminderung der Bacterienkeime zum Vorschein kommen kann.

Jetzt kann zur Besprechung des in der 1., 2. und 3. Serie erhaltenen Filtrationseffectes geschritten werden.

Beobachten wir die Zahl der Bacterien in der Serie I, so kommen wir zu der Erkenntnis, dass der Filtrationseffect sich erst nach 7 Tagen eingestellt hat. Bis zu diesem Zeitpunkte zeigt das filtrirte Wasser sogar eine grössere Zahl der Bacterienkeime als das unfiltrirte. Obwohl diese Erscheinung auf den ersten Blick sehr überraschend wirkt, so ist es doch nicht so schwer, dieselbe zu erklären. Man kann nämlich mit voller Sicherheit annehmen, dass der zur Construirung des Filters benützte Sand, wie ein jeder oberflächlich liegende Theil des Bodens

an der Oberfläche seiner Körner zahlreiche Mikroben enthielt. Des Weiteren wurde vor Beginn der Filtration behufs Austreibung von Luft von unten her in das Sandfilter unfiltrirtes Wasser — da kein anderes zur Disposition stand — zugeführt, welches mehrere Stunden in der Filtrationsschichte stehen blieb, so dass die Bacterien noch Gelegenheit hatten, sich zu vermehren.

Auf diese Weise kann es nicht überraschen, wenn in der ersten Zeit nach Beginn der Filtration, zu welcher Zeit noch kein Filtrationsvermögen dem Sandfilter zukommt — da ein solches erst nach Bildung der oberflächlichen Schlammschichte zu Stande kommt — eine grössere Anzahl von Keimen in dem filtrirten als in dem unfiltrirten Wasser zu Tage tritt.

Der zur Bildung der oberflächlichen Schlammschichte erforderliche Zeitraum dauerte in unseren Versuchen 7 Tage; denn wie aus der Tabelle Nr. I leicht zu entnehmen ist, kam erst an diesem Tage Filtrationseffect zum Vorschein. Obwohl bei den mit neuen Filtrationsschichten construirten Sandfiltern der Filtrationseffect später einzutreten pflegt, so erscheint doch der in unseren Versuchen erforderliche Zeitraum etwas länger als gewöhnlich.

Der Grund davon muss offenbar einerseits in dem Umstande gesucht werden, dass das Moldauwasser gerade bei dem Anfange der I. Filtrationsperiode, wie es auch die betreffenden bacteriologischen Analysen beweisen, verhältnismässig rein war, andererseits, dass das Wasser vor der Filtration in die Absatzbassins geführt wurde, in welchen es längere Zeit ruhig stehen geblieben ist. In Folge dessen waren die Bedingungen zur Entstehung der filtrirenden Schlammschichte nicht günstig, so dass sich die Bildung derselben verzögerte.

Beobachten wir näher die Tabelle I, so sehen wir, dass der Filtrationseffect am 20. IV. 1892 auf einmal sehr schlecht wird, so dass dàs filtrirte Wasser über tausend Keime enthält, welche Erscheinung drei Tage dauert, worauf die Zahl derselben auf 110 pro 1 ccm wirkt.

Was den in dieser I. Periode erhaltenen Filtrationseffect im Allgemeinen betrifft, so bekommen wir für jene Tage, an welchen das Zurückhalten der Mikroben in dem Sandfilter wirklich statt-

fand, durchschnittlich 212 Bacterien pro 1 ccm, d. h. bedeutend mehr als bei einer gut wirkenden Filtration erreicht zu werden pflegt.

Wir sehen also, dass einerseits in der I. Filtrationsperiode der Filtrationseffect überhaupt ein geringer ist, was namentlich aus dem Vergleiche desselben mit den in der II. und III. Serie erhaltenen Resultaten ersichtlich ist, andererseits, dass während der I. Periode solche Unregelmässigkeiten in dem Filtrationsprocess vorkommen können, dass sogar, nachdem das Sandfilter angefangen hat zu wirken, wieder ein Stadium zum Vorschein kommen kann, in welchem der Filtrationseffect vollständig verschwindet.

Worin ist der Grund von den eben besprochenen Erscheinungen zu suchen?

Was den geringen Filtrationseffect in der I. Filtrationsperiode betrifft, so ist er offenbar in dem Umstande zu suchen, dass die Poren zwischen den Sandkörnern, da die Oberfläche der letzteren noch nicht mit den verschiedenen Suspensionen überzogen ist, dem Durchgange der Bacterienkeime günstigere Bedingungen schaffen.

Nicht so leicht war das Abhandenkommen des schon einmal eingetretenen Filtrationseffectes erklärlich. Nichtsdestoweniger glaube ich eine befriedigende Erklärung bieten zu können.

Als nämlich der Filtrationsdruck über 1 m gewachsen war, wurde es nöthig, die I. Serie von Versuchen zu beendigen und das Filter durch Abtragung der oberen verschlammten Sandschichte für eine neue Filtrationsperiode vorzubereiten. Als nun zu diesem Zwecke die über dem Sande befindliche Wassersäule abgelassen wurde, hat Herr Ingenieur Fleissig gefunden, dass die Sandschichte in dem Zeitraume vom 7. bis zum 23. April um 4 cm zusammengesunken ist.

In diesem Zusammensinken des Sandes während der I. Filtrationsperiode glaube ich den Grund des Verschwindens des schon einmal eingetretenen Filtrationseffectes suchen zu müssen.

Denn es ist einleuchtend, dass bei dem Zusammensinken der Sandschichte die schon gebildete filtrirende Schlammdecke gezerrt und zerrissen werden kann.

Dieses Factum, glaube ich, hat für die Praxis eine wichtige Bedeutung. Man kann aus demselben den Schluss ziehen, dass die Filtration während der I. Filtrationsperioden, während welcher ohnehin der Effect kein befriedigender ist, noch in Anbetracht des möglichen Zusammensinkens des Sandes nicht verlässlich ist.

In Folge dessen erscheint es im Sinne der Trinkwassertheorie opportun, die Forderung aufzustellen, in gefährlichen Zeiten, das aus solchen Filtern gewonnene Wasser, bei welchen die Sandschichte erneuert wurde, in das Reinwasserreservoir nicht zuzulassen.

Gehen wir jetzt zur Besprechung der in der II. Serie enthaltenen Resultate über. Diese Serie besteht aus Versuchen zweierlei Art. In der ersten Reihe wurde das Moldauwasser, in der zweiten Reihe das Wasser aus dem an einem Inselchen bei dem Wasserwerke errichteten Filtrationsbrunnen benützt.

Was die Versuche der ersten Reihe betrifft, so ist ersichtlich, dass eine namhafte Verminderung der Bacterienkeime in dem filtrirten Wasser schon nach 17 Stunden sich eingestellt, und dass im Verlaufe von weiteren 24 Stunden der Filtrationseffect seinen Höhepunkt erreicht hat. Die Durchschnittszahl der Bacterienkeime ist 78 pro 1 ccm (bei der Berechnung wurde das filtrirte Wasser vom 25. IV. nicht berücksichtigt, weil an diesem Tage der Filtrationseffect sein Maximum noch nicht erreicht hat). Wenn wir diese Zahl mit der Menge der im unfiltrirten Wasser enthaltenen Keime vergleichen, so können wir den in dieser Periode erzielten Filtrationseffect für einen völlig befriedigenden erklären.

Es ist gleichfalls auf den ersten Blick ersichtlich, dass während dieser Filtrationsperiode das Sandfiltrum im Vergleich zu der ersten Periode eine regelmässige und zugleich bessere Wirkung entwickelt hat.

Werfen wir den Blick auf die in der II. Tabelle enthaltenen Data, welche dem aus dem Filtrationsbrunnen geschöpften Wasser

entsprechen, so sehen wir ganz deutlich, dass, indem die Zahl der Bacterienkeime in dem unfiltrirten Wasser sinkt, sich auch die Zahl der Mikroben des filtrirten Wassers vermindert, so dass die Zahl derselben von 143 bis auf 15 herabgeht.

Dadurch glaube ich einen directen experimentellen Beweis geliefert zu haben, dass die von Fränkel gegen die allgemein geltende Ansicht aufgestellte und auf ein grosses Untersuchungsmaterial statistisch basirte Behauptung[1]), dass nämlich die Zahl der Bacterienkeime des filtrirten Wassers von der Menge derselben im unfiltrirten abhängig ist, richtig ist.

Nach Beendigung der Versuche der II. Serie liess ich zwar, wie oben angeführt wurde, das Sandfilter weiter arbeiten. Die bacteriologische Untersuchung wurde aber unterbrochen und mit derselben erst am 8. Juli 1892 begonnen. Die bis zum 16. Juli ausgeführten Versuche sind jene der III. Serie, welche in der Tabelle III eingetragen sind. Die technische Führung der Filtration befand sich in den Händen des Herrn Ingenieurs Tobiàs.

Die Zahl der Bacterien in 1 ccm des filtrirten Wassers schwankt in diesen Versuchen zwischen 15 und 42. Vergleicht man diese niedrige Zahl mit der Menge der in dem unfiltrirten Wasser befindlichen Mikroben, so kann man den Schluss ziehen, dass der bei unseren Versuchen erzielte Filtrationseffect nicht hinter den Resultaten zurücksteht, welche bei grossen, einige tausend Quadratmeter messenden Sandfiltern erreicht werden.

Ziehen wir den in der III. Serie erzielten Filtrationseffect mit demjenigen der II. in Vergleich, so sehen wir ganz deutlich, dass derselbe wieder gewachsen ist. Dieselbe Erscheinung haben wir schon oben bei den Versuchen der II. Serie im Vergleiche zu derjenigen der I. Serie constatirt.

Somit kann man den Schluss ziehen, dass das Filtrationsvermögen des Sandfilters im Verlaufe der ersten Anfangsperioden vorschreitend wächst.

1) Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundheitspflege, Bd. XXIII, S. 48.

Natürlich dürfen wir uns nicht denken, dass diese Besserung ununterbrochen sich erhalten wird. Denn in Folge der Abtragung der oberen bei einzelnen Filtrationsperioden verschlammten Sandschichten verkleinert sich die Höhe der Filtrationsmasse, wodurch wieder allmählich für das Filtrationsvermögen ungünstige Verhältnisse zu Stande kommen. In den ersten Filtrationsperioden tritt, wie aus den Versuchen zu entnehmen ist, diese ungünstige Wirkung nicht zu Tage. Offenbar hat dies seinen Grund darin, dass der Einfluss jener Vorgänge und Veränderungen, welche die Sandschichten während des Filtrirens erleiden, wobei sich die Sandkörner an ihrer Oberfläche mit neuen Substanzen hauptsächlich organischen Ursprungs bedecken, welche Umstände offenbar einen günstigen Einfluss zu entwickeln im Stande sind, das ungünstige Einwirken der Verkleinerung der Sandhöhe übertrifft.

Nachdem durch diese Versuche der Beweis erbracht worden ist, dass sich das Sandfilter im Stadium einer der Filtrationsfähigkeit der grossen Sandfilter gleichenden Wirkung befindet, habe ich jene Versuche in Angriff genommen, bei welchen gleich wie in den Versuchen Piefke's und Fränkel's mit Hilfe von bekannten in Reincultur zu dem unfiltrirten Wasser zugesetzten Mikroorganismen das Filtrationsvermögen des Sandfilters studirt wurde.

In dieser Richtung wurden zwei Serien von Versuchen ausgeführt. Die technische Führung der Filtration befand sich wieder in den Händen des Herrn Ing. Tobiàs.

Die näheren Einzelheiten dieser Versuche waren folgende:

Serie IV. Am 16. Juli in der Früh hat man angefangen, das Absatzbassin Nr. I mit dem aus den Filtrationsbrunnen[1]) geschöpften Wasser zu füllen.

---

1) Das Wasser aus den Filtrationsbrunnen wurde deswegen zu diesen Versuchen gewählt, weil es, wie aus der Tabelle II ersichtlich ist, nur wenig Bacterienkeime enthalten hat, so dass die Feststellung der in Reincultur zugesetzten Mikroben leichter erschien.

Noch während des Füllens des Absatzbassins hat man einen Liter einer Bouilloncultur eines rothen, aus Wasser gezüchteten Bacillus zugesetzt.[1])

In Folge der bei dem Zuströmen des Wassers sich einstellenden ziemlich intensiven Bewegung im Absatzbassin wurde eine völlige Mischung und Vertheilung der zugesetzten Reincultur bewirkt. Das Füllen des Absatzbassins dauerte bis 3 Uhr Nachmittags. Um 5 Uhr hat man angefangen, das Wasser dem Sandfilter zuzuführen. Der Zufluss dieses mit rothen Bacillen inficirten Wassers dauerte bis 9 Uhr des folgenden Tages, worauf man wieder ein von rothen Bacillen freies Wasser zuströmen liess (bis 10 Uhr 19./VII. 1892).

An demselben Tage (17./VII.) wurde um 8½ Uhr in der Frühe die bacteriologische Untersuchung auf rothe Bacillen begonnen. Die Entnahme der Proben des filtrirten Wassers fand jede Stunde bis ½ 1 Uhr den 18. Juli 1892 statt. Darauf wurden Proben des filtrirten Wassers noch am 19./VII. um 7½ Uhr in der Früh und um 6½ Uhr Abends geschöpft.

Gleichfalls wurden Proben des die rothen Bacillen enthaltenden Wassers des Absatzbassins behufs der bacteriologischen Untersuchung auf rothe Bacillen entnommen.

Die Resultate dieser Versuche sind in der Tabelle Nr. IV übersichtlich zusammengereiht. In der Tabelle IVa ist die jede Stunde gemessene Filtrationsdauer und Filtrationsgeschwindigkeit eingetragen. (Folgen Tabelle V und Va auf S. 338, 339 und 340.)

Am 19. VII. wurden Vorbereitungen zu den Versuchen der V. Serie getroffen, bei welchen mit geringerer, d. h. mit einer Filtrationsgeschwindigkeit von 2 m täglich, gearbeitet werden sollte. (In den Versuchen der IV. Serie war die Filtrations-

1) Dieser Bacillus ist, was sein Wachsthum an den gebräuchlichen Nährmedien betrifft, sehr ähnlich dem Bac. prodigiosus. Er verflüssigt die 10% Fleischpeptongelatine und bildet dabei einen rothen Farbstoff. Die Verflüssigung schreitet aber nicht so schnell wie bei dem Bac. prodigiosus vor. Auf Agar-Agar und Kartoffeln gezüchtet, bildet er einen rothen Ueberzug. Hinsichtlich seiner Grösse und Form gleicht er dem Bacillus typhi. Er ist gleichfalls beweglich.

geschwindigkeit 3 m täglich, welche letztere in der Praxis gewöhnlich benützt wird.) Um die Aenderung des Filtrationsdruckes und der Filtrationsgeschwindigkeit allmählich zu erzielen, wurde von 6 Uhr Nachmittags den 19. VII. der Wasserzufluss zum Filter jede Stunde verkleinert, so dass im Verlaufe von 15 Stunden, d. h. bis 9 Uhr in der Früh den 20. VII., die Filtrationsgeschwindigkeit auf 2 m sank.

Unterdessen wurde bei der Füllung des Absatzbassins Nr. I, welche am 19. VII. zwischen 8—9 Uhr in der Frühe stattfand, 1 Liter der Bouillonreincultur des genannten rothen Bacillus zugesetzt. Um 10 Uhr wurde das Wasser aus diesem Absatzbassin dem Filterbassin zugeführt. Der Zufluss des mit den rothen Bacillen gemischten Wassers dauerte bis ¼10 Uhr in der Frühe des folgenden Tages.

Tabelle V.

Zahl der rothen Bacillen in 1 ccm des unfiltrirten Wassers in dem Absatzbassin Nr. 1 = 50 000.

Filtrirtes Wasser.

Zeit, zu welcher die Wasserprobe geschöpft wurde: Datum	Stunde	Gesammtmenge d. zur bacteriol. Untersuch. entnomm. Wassers	Zahl der rothen Bacillen in 1 ccm des filtrirten Wassers
		ccm	
17. VII. 92	8½ Früh	0,7	6
	9½	0,7	7
	10½	0,7	8
	11½	0,7	9
	12½ Nachm.	0,7	2
	1½	0,5	4
	2½	0,7	16
	3½	0,7	9
	4½	0,7	9
	5½	0,7	11
	6½	0,9	10
	7½	0,7	2
	8½ Abends	0,5	8
	9½	0,7	16
	10½	0,7	13
	11½	0,7	7
18. VII. 92	12½	0,2	10
	1½	0,7	14
	2½	0,7	10
	3½	0,7	7
	4½	0,5	4
	5½ Früh	Fehler b. d. bact. Untersuchung	
	6½	0,7	7
	7½	0,7	4
	8½	0,2	5
	9½	0,7	6
	10½	0,7	0
	11½	Fehler b. d. bact. Untersuchung	
	12½ Nachm.	0,7	0
19. VII. 92	7½ Früh	0,2	1
	6½ Nachm.	0,2	3

Tabelle Va.

Verhalten der jede Stunde gemessenen Filtrationsgeschwindigkeit und des Filtrationsdruckes während der Dauer der Versuche der IV. u. V. Serie.

Datum und Stunde	Filtrationsgeschwindigkeit während einzelner Stdn. (berechn. als tägl. Filtrat.-Geschwindigk.)	Durchschnittliche tägliche Filtrationsgeschwindigkeit	Filtrationsdruck während einzelner Stunden	Durchschnittlicher täglicher Filtrationsdruck	Datum und Stunde	Filtrationsgeschwindigkeit während einzelner Stdn. (berechn. als tägl. Filtrat.-Geschwindigk.)	Durchschnittliche tägliche Filtrationsgeschwindigkeit	Filtrationsdruck während einzelner Stunden	Durchschnittlicher täglicher Filtrationsdruck
17. VII.	m	m	cm	cm	18. VII.	m	m	cm	cm
7 Vorm.	2,93		53		4 Nachm	3,01		54½	
8	2,97		53		5	3,01		54	
9	2,85	3,0	51½	52½	6	2,97		54	
10	3,09		54½		7	2,97		54½	
11	3,14		55		8	2,95		54	
12	3,17		55		9	3,01		54	
1 Nachm.	3,10		51		10	3,01		54	
2	3,06		51		11	2,92		54	
3	3,07		51		12	2,97		53½	
4	3,00		52		19. VII.				
5	2,98		52½		1	2,92		54	
6	2,98		52½		2	2,87		54½	
7	2,98		52		3	2,87		54½	
8	3,01		53½		4	2,92		55	
9	2,95		53		5	2,97		55	
10	2,87		52		6 Vorm.	3,01		55½	
11	2,92		52		7	3,04		56	
12	2,95		52½		8	3,04		54½	
18. VII.					9	3,04	2,91	54½	54,6
1	2,95		52½		10	3,01		54	
2	2,89		52½		11	3,07		55	
3	2,86		52		12	3,07		55	
4	2,92		53		1 Nachm	3,07		55	
5	2,85		53		2	3,04		54	
6 Vorm.	2,90		53½		3	3,01		54½	
7	2,87		52½		4	3,07		54½	
8	2,85		54		5	3,04		55	
9	2,85	2,92	54½	53,8	6	2,97		55	
10	2,79		54½		7	2,94		55	
11	2,82		53½		8	2,75		54½	
12	2,89		54		9	2,66		54	
1 Nachm.	2,95		54½		10	2,58		54	
2	2,97		54½		11	2,45		54	
3	3,04		55		12	2,45		54	

Fortsetzung zu Tabelle Va.

Datum und Stunde	Filtrationsgeschwindigkeit während einzelner Stdn. (berechn. als tägl. Filtrat.-Geschwindigk.)	Durchschnittliche tägliche Filtrationsgeschwindigkeit	Filtrationsdruck während einzelner Stunden	Durchschnittlicher täglicher Filtrationsdruck
20. VII.	m	m	cm	cm
1	2,39		53½	
2	2,42		54	
3	2,37		53	
4	2,35		51	
5	2,33		51	
6 Vorm.	2,32		51	
7	2,27		51½	
8	2,20		50½	
9	2,12		50	
10	2,12		50	
11	2,20	2,15	51	50,1
12	2,09		49½	
1 Nachm.	2,11		49½	
2	2,05		49	
3	2,07		49	
4	2,04		49	
5	2,07		49½	
6	2,11		49	
7	2,04		49	
8	2,04		49	
9	2,00		49	
10	1,97		48½	
11	1,94		48½	
12	2,00		49	
21. VII.				
1	2,07		49½	
2	2,01		49	
3	1,95		49	
4	1,92		49	
5	1,97	2,01	48½	50,3
6 Vorm.	2,01		49	
7	2,04		49½	
8	2,07		50	
9	2,07		50½	
10	2,05		50½	
11 Vorm.	2,07		50½	
12	2,07		50½	
1 Nachm.	2,01		50½	
2	2,04		50	
3	2,03		51	
4	2,01		51	
5	2,00		51	
6	1,97		51	
7	1,97		51	
8	1,97		51½	
9	1,95		51½	
10	2,01		51½	
11	2,04		52	
12	2,04		51½	
22. VII.				
1	2,01		51½	
2	2,04		52	
3	1,97	1,94	51½	52,2
4	1,97		51½	
5	1,97		51½	
6 Vorm.	2,00		52	
7	1,98		52	
8	1,97		52½	
9	1,94		52½	
10	1,94		52	
11	1,95		52	
12	1,97		52½	
1 Nachm.	1,94	1,94	52½	52,2
2	1,94		52	
3	1,95		52	
4	1,94		52½	
5	1,91		53	
6	1,87		53	
7	1,84		53	
8	1,87		53½	

Während der Zeit, als das Wasser dieses Absatzbassins zu Ende ging, wurde 1 Liter der Reincultur des rothen Bacillus dem Wasser des Absatzbassins Nr. II zugesetzt. Am 20. Juli um $^1/_4$10 in der Früh hat man begonnen, mit dem Wasser dieses Absatzbassins zu arbeiten. Die Zufuhr dieses Wassers dauerte bis 3 Uhr den 21. Juli, worauf wieder nur ein von rothen Bacillen freies Wasser zur Filtration benützt wurde.

Am 20. Juli um 7$^1/_2$ Uhr in der Früh wurde mit der Entnahme der zur bacteriologischen Untersuchung nöthigen Wasserproben des filtrirten Wassers begonnen. Dieselben wurden am 20., 21., 22. Juli womöglich jede Stunde geschöpft. Gleichfalls aus dem Wasser des Absatzbassins wurden Platten gegossen.

Ergebnisse der Untersuchung auf rothe Bacillen sind übersichtlich in der Tabelle VI eingetragen.

Der Gang des Filtrationsdruckes und der Filtrationsgeschwindigkeit während der Dauer dieser Versuche ist in der Tabelle Va verzeichnet. (Folgt Tabelle VI auf S. 342.)

Nun wollen wir die Schlussfolgerungen, welche aus den Versuchen der IV. und V. Serie gezogen werden können, anführen.

Vor Allem liefern die Versuche der IV. Serie[1]) den Beweis, dass die Behauptung Fränkel's und Piefke's, dass die Sandfilter kein vollständiges Zurückhalten der in dem Rohwasser befindlichen Bacterienkeime bewirken, richtig ist. Gegen meine Versuche kann aber, glaube ich, der Einwand nicht erhoben werden, dass die Nachahmung des Filtrationsvorganges, wie derselbe in der Praxis statt findet, keine vollständige wäre. Denn dem oben Angeführten gemäss wurde die innere Seite des Filtrirbassins in Cement ausgeführt. Es wurde bei diesen Versuchen eine Filtrationsgeschwindigkeit von 3 m, welche der in der Praxis angewendeten gleich ist, gewählt.

Auch in Bezug auf das gleichmässige Verhalten der Filtrationsgeschwindigkeit und auf das allmähliche Wachsen des

1) Die Versuche der V. Serie werden jetzt absichtlich nicht berücksichtigt, weil vor ihrem Beginn die Filtrationsgeschwindigkeit auf 2 m herabgesetzt wurde.

Filtrationsdruckes können, wie man sich nach der Tabelle Va leicht überzeugen kann, unseren Versuchen keine Einwände gemacht werden.

Tabelle VI.

Zahl der rothen Bacillen in 1 ccm des unfiltrirten Wassers
in dem Absatzbassin Nr. 1 = 15 000,
in dem Absatzbassin Nr. 2 = 50 000.

Filtrirtes Wasser.

Zeit, zu welcher die Wasserprobe geschöpft wurde		Gesammtmenge d. zur bacteriol. Untersuch. entnomm. Wassers	Zahl der rothen Bacillen in 1 ccm des filtrirten Wassers	Zeit, zu welcher die Wasserprobe geschöpft wurde		Gesammtmenge d. zur bacteriol. Untersuch. entnomm. Wassers	Zahl der rothen Bacillen in 1 ccm des filtrirten Wassers
Datum	Stunde			Datum	Stunde		
		ccm				ccm	
20.VII.92	7½ Früh	1	2	21.VII.92	1½ Nachm.	2	23
	8½	2	3		2½	2	29
	9½	2	5		3½	2	28
	10½	2	7		4½	2	22
	11½	2	5		5½	2	25
	12½ Nachm.	3	5		6½	2	20
	1½	1	5		7½	1	24
	2½	2	9		8½ Abends	2	20
	3½	2	8		9½	1	18
	4½	1	7		10½	1	19
	5½	2	9		11½	1	23
	6½	2	7	22.VII.92	3½ Früh	2	19
	7½	2	9		5	2	15
	8½ Abends	2	12		6½	1,5	19
	9½	2	8		8	1	9
	11½	2	13		9	2	15
21.VII.92	2½ Früh	2	19		10	1	10
	3½	2	14		11	1	19
	5	2	22		12	2	20
	6½	2	18		1 Nachm.	2	12
	7½	2	19		2	1	11
	8½	2	19		3	2	18
	9½	2	19		4	1	9
	10½	2	30		5	1	7
	11½	2	11		6	1	9
	12½ Nachm.	2	22				

Als Hauptbeweis aber, dass der bei unserem Sandfilter stattfindende Filtrationsvorgang wirklich hinsichtlich seiner Wirkung den grossen, in der Praxis üblichen Filterbassins nicht nachsteht,

können die Versuche der III. Serie angeführt werden, welche denjenigen der IV. Serie unmittelbar vorangingen. Bei diesen Versuchen schwankte nämlich die Zahl der Bacterienkeime in dem filtrirten Wasser zwischen 15 und 42 pro 1 ccm, welcher Erfolg in Anbetracht des an einigen Tagen ziemlich hohen Gehaltes des Rohwassers an Bacterien als ein sehr günstiger zu nennen ist, und welcher sicher den in der grossen Praxis erzielten Resultaten zur Seite gestellt werden kann.

Was die Zahl der durchgehenden Bacterien betrifft, so differiren aber unsere Versuche in beträchtlichem Maasse von denjenigen Piefke's und Fränkel's.

In der Serie IV enthält 1 ccm des filtrirten Wassers bei der durchschnittlichen Filtrationsgeschwindigkeit von 3 m täglich in maximo 16 rothe Bacillen. Da das Rohwasser 50 000 rothe Bacillen enthielt, so ist der minimale Filtrationseffect gleich 50 000 : 16 oder 3125 : 1.

Der durchschnittlich erzielte Filtrationseffect bei den Versuchen der IV. Serie ist gleich 50 000 : 7,2 oder 6944 : 1.

Der maximale Filtrationseffect ist gleich 50 000 : 2 oder 25 000 : 1.

Bei der V. Serie kann die Berechnung des Filtrationseffectes nicht so sicher ausgeführt werden, indem zuerst ein Wasser mit 15 000 rothen Bacillen, später ein Wasser mit 50 000 rothen Bacillen dem Sandfilter zugeführt wurde. Weil nun der Zeitpunkt, in welchem das Wasser mit 15 000 rothen Bacillen hinsichtlich des abfliessenden filtrirten Wassers aufgehört hat zu wirken, nicht mit Sicherheit festgestellt werden kann, so ist es auch nicht möglich, den Filtrationseffect mit voller Bestimmtheit zu berechnen.

Nichts destoweniger kann bis zu einem gewissen Wahrscheinlichkeitsgrade auch der bei den Versuchen dieser Serie erzielte Filtrationseffect festgesetzt werden.

Auf Grund der Filtrationsgeschwindigkeit, welche in den Versuchen der V. Serie ca. 2 m pro Tag betrug, kann nämlich annähernd jene Zeit berechnet werden, welche das Wasser braucht, um die Filtrationsschichten zu passiren. Bei Berechnung dieser

Zeit muss man aber in's Auge fassen, dass die Filtrationsgeschwindigkeit die Länge jener Bahn angibt, welche das Wasser im leeren Filter Durchgehen müsste, um den Abfluss eines bestimmten Quantums in einer gewissen Zeiteinheit aus dem Filter zu bewirken.

In unserem Falle ist bei der Filtrationsgeschwindigkeit von 2 m pro Tag die zum Durchgehen durch die Bahn der Filterschichten des leeren Filters nöthige Zeit annähernd 20 Stunden. Da aber das Filterbassin mit Sandschichten ausgefüllt ist, so ist es klar, dass, wenn das bestimmte, der Filtrationsgeschwindigkeit von 2 m pro Tag entsprechende Quantum Wassers abfiltrirt werden soll, die Geschwindigkeit des Wassers zwischen den Sandkörnern grösser sein muss.

Da das zwischen den Sandkörnern enthaltene Porenvolum auf 30 % der ganzen Sandmasse geschätzt werden kann, so ist es einleuchtend, dass die Filtrationsgeschwindigkeit annähernd dreimal grösser, und die zum Passiren der Sandschichten nöthige Zeit dreimal kleiner als ca. 7 Stunden betragen muss.

Weil das Wasser aus dem Absatzbassin Nr. 1 dem Sandfilter bis 9¼ Uhr in der Früh des 20. Juli zugeführt wurde, so könnte das dem gleich darauf angeschlossenen Absatzbassin entsprechende Wasser ca. um 5 Uhr Nachmittag aus dem Filter zu fliessen beginnen.

Diese Art der Berechnung gewinnt an Wahrscheinlichkeit, wenn wir die Tabelle VI mit Rücksicht auf diese Berechnung betrachten. Wir sehen nämlich, dass am 20. Juli 1892 um 5 Uhr Nachmittag, zu welcher Zeit das mit grösserer Menge der rothen Bacillen gemischte Wasser von dem Sandfilter anfangen sollte abzufliessen, thatsächlich die Menge der im filtrirten Wasser gefundenen Bacillen zu wachsen beginnt.

Wenn wir diese durch Rechnung gefundene Zeitgrenze als Basis zur Feststellung des Filtrationseffectes wählen, so sehen wir, dass die maximale Menge der rothen Bacillen des filtrirten Wassers am 21. VII. um 10½ Uhr Vormittag 30 beträgt.

Der minimale Filtrationseffect ist also gleich 50 000 : 30 oder **1666 : 1.**

Auch für die Zeit, in welcher das Wasser mit 15000 rothen Bacillen zugeführt wurde, kann auf ähnliche Weise der Filtrationseffect gefunden werden. Bis 5 Uhr Nachmittag des 20. Juli ist die höchste Zahl der rothen Bacillen des filtrirten Wassers 9.

Der Filtrationseffect ist also gleich 15000 : 9 oder **1666 : 1**.

Jetzt handelt es sich um die Berechnung des durchschnittlichen Filtrationseffectes der Versuche der V. Serie. Dieser kann sowohl für das Stadium, während welchen das Wasser mit 15,000 als auch für jenes, während dessen das Wasser mit 50000 rothen Bacillen in das Sandfilter floss, berechnet werden.

Der durchschnittliche Filtrationseffect für die Zeit von 7 ½ Uhr in der Früh bis 5 Uhr Nachmittag des 20. Juli ist 15000 : 5,9 (5,9 = die durchschnittliche Menge der rothen Bacillen des filtrirten Wassers) oder **2542 : 1**.

Der durchschnittliche Filtrationseffect für die Zeit von 5 Uhr Nachmittag des 20. Juli bis 5 Uhr Nachmittag des 21. Juli ist 50000 : 16 oder **3125 : 1**.

Der maximale Filtrationseffect für das dem Wasser mit 15000 rothen Bacillen entsprechende Zeitstadium ist gleich 15000 : 2 oder **7500 : 1**.

Der maximale Filtrationseffekt für das Stadium, während dessen das Wasser mit 50,000 rothen Bacillen zufloss, ist gleich 50,000 : 7 oder **7142 : 1**.

Aus der eben dargelegten Berechnung geht hervor, dass bei der Filtrationsgeschwindigkeit von 3 m pro Tag der Versuche der IV. Serie der durchschnittliche Filtrationseffect annähernd 7000 : 1, bei den Versuchen der V. Serie mit der Filtrationsgeschwindigkeit annähernd 3000 : 1 gleich war.

Diese Zahlen beweisen, dass der in unseren Versuchen erzielte Effect viel besser war, als in den Experimenten Fränkel's und Piefke's, welche ihn auf 1000 : 1 schätzen.

Dass bei unseren Versuchen ein besserer Filtrationseffect erreicht wurde, kann man, glaube ich, leicht erklären. In dieser Hinsicht ist vor Allem nöthig, darauf hinzuweisen, dass man mit den Versuchen, welche vermittelst der Reinculturen ausgeführt

wurden, erst dann begonnen hat, als der Sandfilter sich 2½ Monate in Thätigkeit befand und nachdem durch vorläufige Experimente festgestellt worden war, dass derselbe in ähnlicher Weise, wie die in der Praxis benützten Filterbassins wirkt. Man braucht den oben angeführten Erfahrungen zu Folge kaum in Zweifel zu ziehen, dass, wenn man die Versuche mit rothen Bacillen schon während der I. oder der II. Filtrationsperiode ausgeführt hätte, der Effect bei Weitem nicht so vollkommen ausgefallen wäre.

Beobachten wir aber die Versuche Piefke's und Fränkel's, so sehen wir, dass man dieses Moment ausser Acht gelassen hat. Man ist an die Ausführung der diesbezüglichen Versuche gleich nach Construction des Filters, d. h. in einem für den Filtrationsvorgang, wie oben bewiesen wurde, ungünstigen Zeitpunkte, getreten. Die Experimente Piefke's und Fränkel's dauerten zwar einige Monate hindurch, nichts destoweniger kann man aus den Tabellen Fränkel's und Piefke's den Nachweis liefern, dass der Filtrationseffect auch in den späteren Perioden nicht ein befriedigender war.

In diesen Tabellen befindet sich eine die Gesammtzahl der Bacterienkeime des filtrirten Wassers angebende Rubrik.

Betrachten wir diese Rubrik bei der Tabelle IIb[1]) und IV[1]) (Versuche der II. und IV. Serie), so sehen wir Folgendes:

Während der Filtrationsperiode vom 14. bis 20. Juni erreicht die Gesammtzahl der Bacterienkeime des filtrirten Wassers pro 1 ccm bei der Filtrationsgeschwindigkeit von 300 mm stündlich an einigen Tagen die Höhe: 1390, 240, 460, 520, 420, 320, 160.

In der Periode vom 5. VI. bis 2. VII. ist die Zahl der Bacterienkeime des filtrirten Wassers pro 1 ccm bei einer Filtrationsgeschwindigkeit von 50 mm stündlich an einigen Tagen gleich: 110, 130, 129, 286, 230, 260, 220, 210.

In der Periode vom 15. August bis 23. Oktober (Filtrationsgeschwindigkeit 25 mm stündlich) enthielt das Wasser an einigen Tagen: 108, 144, 147, 381 Bacterienkeime pro 1 ccm.

Bei dem anderen Sandfilter erreicht in derselben Zeit bei der Filtrationsgeschwindigkeit von 50 mm stündlich die Gesammt-

1) Zeitschrift f. Hygiene, Bd. VIII, S. 1 (Tabellen S. 33 bis 39).

zahl der Bacterienkeime des filtrirten Wassers pro 1 ccm die Höhe 202, 296, 453, 680, 219, 167, 180, 125, 194, 150, 154, 128, 158.

Diese eben angeführten Zahlen liefern den Beweis, dass der Filtrationsvorgang in den Versuchen Piefke's und Fränkel's kein besonders günstiger war, dass also die von den technischen Fachmännern hinsichtlich der Wirkungsfähigkeit der von ihnen benützten Filter erhobenen Einwände begründet waren.

Eine andere bemerkenswerthe Erscheinung ist unter Hinweis auf die Tabelle IV und V meiner Arbeit die, dass die rothen Bacillen in dem filtrirten Wasser noch eine ziemlich lange Zeit nach Beendigung der Zufuhr des die rothen Bacillen enthaltenden Wassers nachweisbar waren. So z. B. in der Serie IV hat man die Zuströmung des Wassers mit rothen Bacillen um 9 Uhr am 17. Juli geschlossen Nichts destoweniger hat man die rothen Bacillen noch am 19. VII. um 6½ Uhr Abends, d. h. nach 57 Stunden in dem filtrirten Wasser gefunden.

Gleichfalls in der Serie V, wo der Abschluss des Wassers mit rothen Bacillen am 21. Juli um 3½ Uhr in der Früh stattfand, wurden die rothen Bacillen im filtrirten Wasser nech nach 33 Stunden, nachgewiesen.

Man kann daraus den Schluss ziehen, dass, wenn ein zeitlich ziemlich begrenzter Zufluss von einem pathogene Keime enthaltenden Wasser auf das Sandfilter stattfindet, ein sehr geringer Bruchtheil der Letzteren lange Zeit, wiewohl schon längere Zeit hindurch das zuströmende Wasser von solchen frei sein kann, mit dem filtrirten Wasser abgehen kann.

Es wäre jedenfalls sehr wichtig, die Zeitlänge dieses, um sich so auszudrücken, nachträglichen Entkommens der Keime kennen zu lernen. Auf diese Frage geben aber die von mir ausgeführten Versuche keine Antwort. Als ich nämlich die Versuche mit rothen Bacillen in Angriff nahm, habe ich mich der Meinung hingegeben, dass vielleicht das Entweichen von rothen Bacillen, wenn es überhaupt zum Vorschein kommt, zeitlich ziemlich begrenzt wird. Ich habe mich demnach der Vermuthung hingegeben, dass, wenn die Entnahme von Proben des

filtrirten Wassers 30—40 Stunden nach dem Abschlusse des die rothen Bacillen zuführenden Wassers stattfinden wird, dass man dabei das ganze Bild des voraussichtlichen Durchschlüpfens von Mikroben erhaschen wird.

Wie man sieht, haben mich die Versuche eines Anderen belehrt. Es ist somit einleuchtend, dass, wenn man diese Frage lösen wollte, man die Dauer solcher Versuche bedeutend verlängern müsste.

Was die Erklärung dieses nachträglichen Erscheinens der rothen Bacillen im filtrirten Wasser betrifft, so ist anzunehmen, dass ein Bruchtheil der schon einmal in dem Sandfilter festgehaltenen Keime doch unter Umständen durch die Wirkung der Strömung in Bewegung gesetzt und fortgeschwemmt wird.

Endlich ist noch eine interessante Erscheinung zu besprechen. Beobachten wir nämlich den durchschnittlichen Filtrationseffect der Serie IV, so sehen wir, dass er fast zweimal so gross ist, als derjenige der Serie V. Diese Erscheinung muss um so mehr auffallen, als die Filtrationsgeschwindigkeit bei den Versuchen der V. Serie viel kleiner war (nämlich 2 m pro Tag.) Den herrschenden Anrichten gemäss sollte man erwarten, dass der durchschnittliche Filtrationseffect bei den Versuchen der V. Serie wachsen wird. Denn es ist doch ein allgemein anerkanntes Gesetz: Je kleiner die Filtrationsgeschwindigkeit, desto vollkommener der Filtrationseffect.

Um die allgemeine Gültigkeit dieses Gesetzes aufrecht zu erhalten, könnte man vielleicht darauf hinweisen, dass vor dem Beginne der Versuche der V. Serie die Filtrationsgeschwindigkeit von 3 auf 2 m herabgesetzt wurde, und dass eben in dieser Aenderung der Grund der Verschlechterung der Filtration zu suchen ist.

Dagegen ist aber in's Auge zu fassen, dass die Verkleinerung der Filtrationsgeschwindigkeit allmählich geschah, so dass der sonst geringe Zuwachs des Filtrationsdruckes um 6 cm sehr langsam zu Stande kam. Schon in Anbetracht dieses Sachverhaltes erschien es somit wenig plausibel, dass durch die allmähliche

Verminderung der Filtrationsgeschwindigkeit eine Beschädigung der filtrirenden Schlammdecke zu Stande kommen könnte. Ausserdem kann man gewisse Momente anführen, welche noch mehr gegen die oben angeführte Erklärung sprechen. Sollte nämlich der schlechtere Filtrationseffect durch Beschädigung der filtrirenden Schlammschichte infolge der erniedrigten Filtrationsgeschwindigkeit entstehen, so müsste man annehmen, dass sich dieser Uebelstand in kurzer Zeit verbessern müsste. Denn wir haben z. B. bei den Versuchen der II. Serie gesehen, dass nach Abtragung der ganzen filtrirenden Schlammschichte sich der vollständige Filtrationseffect nach 41 Stunden eingestellt hat. Prüfen wir die Versuche der V. Serie in dieser Richtung, so sehen wir, dass im Verlaufe von zwei Tagen keine Besserung des Filtrationseffectes eingetreten ist. Denn die Menge der durchtretenden rothen Bacillen am 22. VII. 1892 beträgt 19, 15, 9, 15, 10, in 1 cm des filtrirten Wassers, was dem Filtrationseffect 50 000 : 14,5 oder annähernd 3448 : 1 entspricht.

Beobachten wir den Filtrationseffekt in den ersten Stunden der V. Serie, so sehen wir, dass 1 cm des filtrirten Wassers 2 3, 5, 7, 5, 5, 5 rothe Bacillen enthält, was dem Filtrationseffec, 15 000 : 4,6 oder 3260 : 1 entspricht.

Aus dieser Berechnung geht deutlich hervor, dass im Verlaufe von 2 Tagen keine merkliche Besserung des Filtrationseffectes in Erscheinung getreten ist.

Indem also die eben besprochene Erklärung der Verschlechterung des Filtrationseffectes keineswegs befriedigend ausfällt, so tritt die Frage heran, ob es nicht möglich wäre, diese Verschlechterung des Filtrationseffectes auf eine andere Weise zu deuten. Ich glaube, dass es thatsächlich möglich ist.

Wir haben nämlich gehört, dass ein gewisser Bruchtheil der schon einmal in dem Filter festgehaltenen Bacillen sich wieder lockern und mit dem Strome fortgeschwemmt werden kann.

Infolgedessen erscheint es als weitere und natürliche Consequenz dieses Verhaltens, dass, je mehr rothe Bacillen in dem Filter festgehalten werden, eine desto grössere Zahl derselben sich wieder loslösen und mit dem Wasser entschlüpfen kann.

Wenden wir uns nun im Sinne dieser Speculation zu den Versuchen der V. Serie, so sehen wir, dass wirklich bei derselben eine grössere Ansammlung von rothen Bacillen in der Filtrirmasse stattgefunden haben musste; denn die Serie V folgte unmittelbar auf die Serie IV, während welcher ein Wasser mit 50 000 rothen Keimen in 1 ccm dem Filter zuströmte. *Somit ist die Möglichkeit gegeben, dass eben die grössere Ansammlung der rothen Bacillen im Sandfilter dem grösseren nachträglichen Abgange derselben Vorschub geleistet hat.*

Welche von den eben discutirten Deutungen thatsächlich die richtige ist, kann selbstverständlich nur auf Grundlage von neuen Versuchen beantwortet werden.

Untersuchungen über Giftbildung verschiedener Vibrionen in Hühnereiern.

Von

Stabsarzt Dr. **Bonhoff.**

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin.)

Die von Hüppe[1]) und Scholl[2]) vorgeschlagene und ausgeführte Züchtung von Cholerabacterien in rohen Hühnereiern und die von diesen Autoren zuerst versuchte Reingewinnung der auf solchen Nährböden gebildeten Giftstoffe haben zu einer Reihe von Arbeiten in dieser Richtung Anlass gegeben, die zum Theil ganz auseinandergehende Resultate zeitigten. Auf die bei diesen Meinungsverschiedenheiten sich gegenüberstehenden Ansichten wird weiter unten genügend Gelegenheit sich ergeben, näher einzugehen. Alle diese Arbeiten beschäftigen sich ausschliesslich mit den Veränderungen, die von Cholerabacterien im Ei hervorgerufen werden. Erst in letzter Zeit ist in einer Arbeit von Grigoriew[3]), die aus dem hygienischen Institut Berlin hervorgegangen und in dieser Zeitschrift, Bd. XXI, erschienen ist, betont worden, dass es an sich nicht ohne Bedeutung ist, die Spaltungsproducte des Eies, wie sie von anderen Vibrionen gebildet werden, kennen zu lernen, und dass man nur auf diesem

1) Hüppe. Ueber Verwendung von Eiern zu Culturzwecken. Centralbl. f. Bact. u. Parasitenk., 1888, Bd. IV, Nr. 4.

2) Scholl. Archiv f. Hygiene, 1892, Bd. XV, S. 172 ff. Untersuch. über giftige Eiweisskörper bei Cholera asiatica.

3) Grigoriew. Archiv f. Hygiene, 1894, Bd. XXI, 2. Heft, S. 142 ff.

Wege im Stande ist, festzustellen, ob die durch den Choleravibrio hervorgerufenen Spaltungen in Hühnereiern überhaupt specifischer Natur sind. Grigoriew theilt dann seine Versuchsergebnisse, die er bei der Züchtung des Choleravibrio, des Vibrio Metschnikoff, des Vibrio Finkler-Prior, des Dencke'schen und des Vibrio aquatilis Günther in rohen Hühnereiern und bei der Einspritzung der gereinigten Giftsubstanzen in die Bauchhöhle von Meerschweinchen erhalten hat, des genaueren mit. Die beiden letztgenannten Vibrionenarten hatten sich in den Eiern so gut wie gar nicht vermehrt, wahrscheinlich weil die letzteren bei einer Temperatur gehalten waren, die den beiden Species eine Vermehrung auch auf anderen Nährböden nicht gestattet. Die mit Vibrio Finkler-Prior geimpften Eier zeigten eine gute Vermehrung der eingebrachten Bacterien; 3 bis 4 Wochen nach der Impfung nahm das Eiweiss derselben eine schmutziggelbe Färbung an, ohne bedeutende Aenderung seiner Consistenz. Der Dotter wurde flüssiger und mit gelbgrauem Häutchen umgrenzt. Die Culturen von Metschnikoff's Vibrionen in Hühnereiern glichen sonst in Allem jenen der Choleravibrionen, unterschieden sich nur durch stärkere Verflüssigung des Eiweisses und durch eine andere, eher schmutziggelbe Färbung, während das Eiweiss der Choleraeier schmutziggrau verfärbt war.

Nach der Injection des Eiweisses von Finkler-Prior-Eiern in die Bauchhöhle von Meerschweinchen traten leichte krampfhafte Contracturen in den hinteren Extremitäten der Thiere ein, und es zeigte sich eine ziemlich bedeutende Temperaturabnahme; doch waren die Thiere nach ½ bis 1 Stunde völlig gesund. Nach der Einspritzung des durch Cholera- und Metschnikoff-Vibrionen veränderten Eiweisses traten die Krankheitserscheinungen und der Tod der Thiere in kürzerer Zeit ein, als nach Injection derselben auf anderen Nährböden gezüchteten Vibrionen. Doch zeigte das Krankheitsbild genau die von Gruber und Wiener beschriebene Eigenthümlichkeit, dass auf den etwa 30 Minuten dauernden, der Einspritzung folgenden Anfall von Mattigkeit und Zittern Erholung und dann erst, nach etwa drei Stunden, das typische Vergiftungsbild folgte.

Die Metschnikoff'schen Vibrionen riefen schwerere Erscheinungen derselben Art hervor wie die Cholerabacillen.

Die nach Scholl'scher Methode (mit der von Gruber[1]) angegebenen Abänderung) gewonnenen wässerigen Extracte des Alkoholniederschlages der inficirten Eier hatten auf Meerschweinchen einen sehr verschiedenen Einfluss. Während die »Finkler-Prior-Extracte« nur vorübergehende Excitationserscheinungen hervorriefen, erzeugten die »Cholera- und Metschnikoff-Extracte« vollkommen ausgeprägte Giftwirkungen, die sich nur dadurch von einander unterschieden, dass V. Metschnikoff schwerere Erscheinungen in kürzerer Zeit hervorrief, und dass das Exsudat in der Bauchhöhle der gestorbenen »Metschnikoff«-Thiere einen blutigen Charakter hatte. Grigoriew zieht aus seinen Experimenten den Schluss, dass die Vibrionen der Cholera asiatica, Metschnikoff und Finkler-Prior offenbar einander ähnliche Giftstoffe entstehen lassen, wenn sie unter vergleichbaren Verhältnissen gezüchtet werden.

Die eben in Kürze mitgetheilten Resultate Grigoriew's liessen eine Prüfung der einschlägigen Verhältnisse auch bei anderen Vibrionenarten wünschenswerth erscheinen, und mein hochverehrter Chef, Herr Prof. Rubner, beauftragte mich im Frühjahr des Jahres mit der Aufgabe, die Untersuchung Grigoriew's auf den Vibrio Danubicus, Vibrio Berolinensis und Vibrio Dunbar auszudehnen, zu gleicher Zeit aber zu untersuchen, ob die nach Einspritzung der Eierextracte etwa am Leben bleibenden Thiere eine tödtliche intraperitonale Choleraimpfung überstehen würden. Im positiven Sinne ausfallende Versuche würden dann einen Zweifel an der Identität der in solchen Eiern durch jeden der genannten Vibrionen erzeugten Gifte und der in den Leibern der Cholerabacterien enthaltenen bezw. an der Gleichheit ihrer Wirkung auf die Bauchhöhle der Meerschweinchen kaum noch gerechtfertigt erscheinen lassen.

1) Gruber. Weitere Mittheilungen über vermeintliche und wirkliche Choleragifte. Wiener klin. Wochenschr. Nr. 48, 1892.

Zur Controle wurden auch aus mit Cholerabacterien geimpften und aus ungeimpften, aber sonst in ganz gleicher Weise wie die geimpften behandelten Eiern die wässerigen Extracte des Alkoholniederschlages hergestellt und in gleichem Sinne geprüft.

Die bei der Impfung der Eier angewendete Methode unterscheidet sich nicht in irgend einem wesentlichen Punkte von der allgemein üblichen. Möglichst frische Eier wurden gründlich gereinigt, vier Stunden in salzsauren Sublimat 1 : 1000 gelegt, dann mit abs. Alkohol, dann mit Aether abgewaschen und in eine grosse, mit steriler Watte am Boden bedeckte, sterilisirte Doppelschale gelegt. Bei der sofort vorgenommenen Impfung wurde das Ei mit der möglichst sterilisirten linken Hand (gründliche Waschung, Desinfection und Alkoholbenetzung der Finger) gehalten, mit der rechten am spitzen Pol ein Loch von eben genügender Weite mit Hilfe eines aus abs. Alkohol genommenen, frisch in der Flamme abgebrannten sterilen Wassers gebohrt und durch dasselbe die Platinnadel mit der Cultur an der Spitze eingeführt bis etwa zur Mitte des Eies. Der Verschluss geschah mit heissem, flüssigem Paraffin in dreifacher Schicht; das geimpfte Ei wurde, falls seine Schale nicht weiter geborsten war, sofort in eine zweite, ebenso wie oben beschrieben ist, vorbereitete Doppelschale gelegt; sämmtliche Eier dann in dem Brütschrank bei 37,6 ° C. untergebracht. Der Aufenthalt daselbst betrug bei allen Eiern, geimpften und ungeimpften, 19 Tage. Die Eröffnung der Eier geschah durch Entfernung des Paraffins mit heissem, sterilem Messer und geringe Erweiterung des Loches. Auf die so genügend weite Oeffnung wurde die Mündung eines sterilen Erlenmeyer'schen Kölbchens angesetzt und umgedreht. Floss der Inhalt nicht sogleich aus, so wurde eine kleine Gegenöffnung am oben befindlichen Pol angebracht. Beim Oeffnen und Abfliessen des Inhaltes wurde Farbe, Consistenz der einzelnen Theile und der Geruch des Eies beobachtet. Nach Aufhören des Abflusses, der häufig durch die zähe Consistenz des Dotters etwas verzögert wurde, kam mit dem Wattepropfen in das Kölbchen ein mit basischem Bleiacetat getränkter Papierstreifen. Der Inhalt des zerschlagenen Eies, das immer noch Reste des Eiweisses und an der Seite, auf welcher

es gelegen, auch Dotterreste enthielt, wurde dann schnell zur Impfung eines schräg erstarrten gewöhnlichen Agarröhrchens, eines Traubenzucker-Agarröhrchens in hoher Schicht und zur Prüfung der Reaction mittels blauen und rothen Lakmuspapieres benützt; von den Eiweiss- und Dotterresten ausserdem sofort ein mikroskopisches Präparat angefertigt. Nach Schütteln des Erlenmeyer'schen Kölbchens und einigem Zuwarten wurde dann der Papierstreifen zur Schwefelwasserstoff-Reaktion entfernt, zu gleicher Zeit diese Oeffnung des Kölbchens benutzt, um ein zweites schräges Agarröhrchen und Traubenzucker-Agarröhrchen und ein verflüssigtes Gelatineröhrchen zu impfen. Hierbei wurden die Oesen und Nadeln möglichst viel mit den verschiedenen Theilen des Eies in Berührung gebracht. Das Gelatineröhrchen diente als Original zu einer Verdünnungsplatte, beide wurden ausgegossen und aufbewahrt. Das Kölbchen kam bis zum nächsten Morgen auf Eis und wurde je nach dem Resultate der culturellen etc. Untersuchung entweder mit Alkohol behandelt oder vernichtet. Die Gelatineplatten, bei 22° C. während vier Tagen aufbewahrt, wurden täglich untersucht. Die Agar-Röhrchen kamen in den Brütschrank und wurden bereits am nächsten Morgen untersucht, jedes einzelne auch mikroskopisch, dann vernichtet. Die mikroskopischen Präparate wurden, wenn sie lufttrocken und durch die Flamme gezogen waren, ganz kurz mit 1% Essigsäure behandelt (die Säure mit dest. Wasser abgespült), dann einige Zeit in Aether gelegt und nun mit einer dünnen, wässerigen Fuchsinlösung kalt 15 Minuten gefärbt. Nach einer kurzen Erwärmung über dem Bunsenbrenner wurde dann der Farbstoff entfernt und in Wasser untersucht. Es mag gleich hier hervorgehoben werden, dass nach meiner Ansicht auf das mikroskopische Präparat der allergeringste Werth bei dem ganzen Verfahren, sich ein Urtheil über die Reinheit der Eicultur zu verschaffen, zu legen ist. Denn abgesehen davon, dass die Bilder immer undeutlich sind, auch wenn man eine gewisse Uebung in dieser Untersuchung erlangt hat, dass sehr häufig die geronnenen Eiweisssubstanzen und die nicht ganz entfernten Fettkörper ganze Gesichtsfelder zur Untersuchung untauglich machen,

repräsentirt die zum Anfertigen verwendete Spur des Eies einen so geringen Bruchtheil der ganzen voluminösen Cultur, dass man sich hüten sollte, gerade nach dieser Untersuchung ein Urtheil über die Beschaffenheit der Eicultur abzugeben. In späteren Theilen der Arbeit wird auf diesen Punkt, die Beurtheilung der Reinheit der Cultur, noch eingehender zurückzukommen sein.

Die in jeder Beziehung, auf den Agar-, Traubenzucker-Agarröhrchen, den Gelatineplatten und im mikroskopischen Präparat rein erwiesenen Eiculturen wurden nun, das Ei zu 30 g gerechnet, in die zehnfache Menge absoluten Alkohols eingetropft und das Gemenge, vor Verdunstung geschützt, bis zum nächsten Morgen stehen gelassen. In allen Fällen fand sich dann die Hauptmasse des Niederschlages am Boden, die darüber stehende Schicht Alkohol war völlig klar, kräftig gelb gefärbt, und an der Oberfläche der Flüssigkeit befand sich eine dünnere Schicht geronnenen Eiweisses. Jetzt wurde das Ganze durch Fliesspapier filtrirt, so lange bis der durchfliessende Alkohol völlig klar blieb, dann mit neuem abs. Alkohol völlig ausgewaschen, der Filterrückstand zwischen dicken Lagen Fliesspapier so lange abgepresst, als sich so noch etwas entfernen liess, und nun die Austrocknung und gänzliche Entfernung des Alkohols im Exsiccator über H_2SO_4 vorgenommen. Das erhaltene, ganz trockene, nicht mehr nach Alkohol riechende Pulver wurde nun mit der dreifachen Menge sterilisirten, 30° C. warmen destillirten Wassers für drei Stunden in den Brütschrank bei 38° C. gestellt, dann filtrirt, und das erhaltene Filtrat Thieren intraperitoneal eingespritzt oder bis zur Einspritzung auf Eis aufbewahrt.

Der gelb gefärbte Alkohol wurde ausserdem in einem Falle theils bei Zimmertemperatur, theils bei 100° C. abdestillirt, der verbleibende Rückstand mit 30° C. warmem, sterilisirtem, destillirtem Wasser, meist etwa 15 ccm, aufgenommen und ebenfalls zur Einspritzung bei Meerschweinchen verwendet.

Die Wirkung der Extracte wurde durch Messung der Körperwärme der Thiere, in den ersten Stunden nach der Impfung, durch Beobachtung ihres Gewichtes und durch directe Besichtigung ihres Verhaltens während einer gewissen Zeit nach der Ein-

spritzung festgestellt. Die nachfolgende Choleraimpfung wurde niemals vor Ablauf von 14 Tagen nach dem Injectionstage vorgenommen.

I. Cholera-Eier und Cholera-Ei-Extracte.

Die zur Impfung von 25 Eiern verwendete Choleracultur stammt von einem Schiffer St., der, von Hamburg kommend, im October 1893 in Wittenberge erkrankte, und dessen Dejectionen, von Herrn Sanitätsrath Dr. Hanstein dem Institut zugesandt, Kommabacillen in Reincultur enthielten. Wernicke, der in seiner Arbeit: »Beitrag zur Kenntnis der im Flusswasser vorkommenden Vibrionenarten« die von ihm isolirte Cultur beschreibt, sagt, dass diese Vibrionen sich in ihrem Wachsthum in den Colonien und auf den künstlichen Nährböden typisch verhielten; »nur war von Anfang an auffällig, dass ihre Virulenz für Meerschweinchen nicht besonders gross war, da eine Oese frischer Agarcultur (1,5 mg), in 1 ccm sterilisirter Bouillon vertheilt, nicht genügte, um bei intraabdomineller Injection den Tod bei Thieren von 300—350 g Körpergewicht herbeizuführen, sondern meist 4 und 5 Oesen hierzu erforderlich waren. Bei dieser grösseren Dosis traten dann aber die von Pfeiffer beschriebenen charakteristischen Vergiftungssymptome auf, denen in 20—30 Stunden der exitus letalis folgte.« Trotz der geringen Virulenz wurde diese Wittenberger Choleracultur St. gewählt, weil sie die frischeste, zuletzt aus Dejectionen gewonnene Cultur war, die mir zur Verfügung stand; und an der geringen Virulenz konnte man umsoweniger Anstoss nehmen, als in der Zeit der Impfung der Eier die anderen von mir fortgezüchteten Choleraarten, damals etwa 14 aus den verschiedensten Zeiten und Gegenden stammende, mit einer Ausnahme sich keiner höheren Giftigkeit erfreuten. Die Ausnahme war die aus Massauah stammende Cultur, die ich absichtlich ausschloss, da sie nicht aus Dejectionen gewonnen wurde und auch sonst nicht in jeder Weise typisch sich verhält. Dass die Wittenberger Art letzteres thut, kann ich vollauf be-

1) Wernicke. Beitrag zur Kenntnis der im Flusswasser vorkommenden Vibrionenarten. Archiv f. Hygiene, Bd. XXI, 1894, Heft 2, S. 166.

stätigen. Die einzige etwas abweichende, im Laufe der Zeit wiederholt beobachtete Eigenschaft ist eine äusserst langsame, in den ersten drei Tagen überhaupt nicht eintretende Verflüssigung von schräg erstarrtem Rinder- und Hammelserum, das ja von den meisten Choleraarten schon am zweiten Tage deutlich verflüssigt wird. Die Virulenz der Cultur wurde vor Impfung der Eier noch einmal geprüft mit dem Bacterienrasen eines Agarröhrchens, das von demselben Agarröhrchen abgeimpft war, wie die nachher zur Ei-Infection verwendete Agarcultur. Beide Röhrchen hatten 24 Stunden bei 37,6 ° C. gestanden und bestanden aus einer Reincultur von Kommabacillen, wie mikroskopisch und culturell festgestellt wurde. Das Bacterienmaterial wurde hier, wie bei den übrigen gleichen Versuchen, in bekannter Weise mit steriler Oese abgekratzt, der Rest mit sterilem, 36 ° C. warmem Wasser nachgeholt und mit steriler Koch'scher Spritze intraperitoneal beigebracht.

Nr.	Gewicht	Temp. vorher	Menge des Impfstoffs	Temperatur nach				Erfolg
				2 Std.	4 Std.	6 Std.	8 Std.	
1	320 g	38,5	1/2 Ch. Ag. C. 24 Std. alt	37,5	35,0	33,5	33,0	† nach 17 Stdn.
2	340 „	38,7	1/4 do.	37,0	36,8	36,0	36,0	† nach 40 Std.
3	330 „	38,0	1/8 do.	38,6	38,9	37,0	36,8	lebt

Die Virulenz der Cultur hatte sich also gegen die Zeit der Isolirung nicht wesentlich verändert, wenn wir infolge des langsamen Eintritts des Todes bei Thier Nr. 2 1/4 Ch.-Ag.-C. als tödtliche Minimaldosis annehmen.

Mit dem zweiten Agarröhrchen wurden nun am 16. März 1894 25 Eier geimpft in der oben genauer beschriebenen Weise; alle aus einem Röhrchen, das, wie eine nach Impfung der Eier entnommene, auf Agar verimpfte Probe des Rasens ergab, bis zum Schluss unverunreinigt geblieben war. Am dritten Tage begannen an einzelnen Eiern im Brütschrank schwarze Flecke aufzutreten, die im weiteren Verlaufe sich theilweise noch vermehrten. Am 4. April, nach 19 Tagen, zeigten die Eier äusserlich Folgendes:

Völlig weiss, unverändert in dem Aussehen der Schale war keines, kaum verändert, nur etwas schmutzig-grau aussehend, waren fünf. Eine diffuse schwärzliche Verfärbung mit geringer, schwarzer Punktirung zeigten neun Eier, und dieselbe diffuse Schwärzung mit stellenweisen dicken, bronzeartig glänzenden, grösseren Flecken war an sieben Eiern erkennbar. Vier Eier waren infolge grösserer Risse in der Schale unbrauchbar und wurden gar nicht weiter untersucht; den Eindruck des Auseinandergeplatztseins infolge starken Druckes im Inneren des Eies machten sie nicht. In Tabelle I sind die Resultate der Untersuchung bei den 21 Cholera-eiern zusammengestellt. (Folgt Tabelle I auf S. 360 u. 361.)

Der Geruch der Eier war in fast allen Fällen ein ganz charakteristischer, süsslich aromatisch, ähnlich so, wie ihn Choleraculturen auch auf anderen Nährböden zeigen. Doch war er sehr viel kräftiger und auf die Dauer geradezu widerlich. Zuweilen war neben dem Aroma deutlich ein schwach brenzlicher Geruch bemerkbar. Das Ei Nr. 20 war geruchlos wie ein völlig normales Ei, und nur zwei Eier zeigten einen deutlichen Geruch von H_2S. Wie sich durch die culturelle Untersuchung herausstellte, ist in dem Geruch ein Diagnosticum für die Reinheit des Eies nicht gegeben, da sich bei jeder Art desselben verunreinigte und durch die Untersuchung nicht als verunreinigt nachweisbare Eier fanden. Auch in der Farbe und Consistenz des Eiinhaltes war irgend ein charakteristisches Merkmal zur Unterscheidung der Reinculturen von Nicht-Reinkulturen nicht gegeben. Meist war das Eiweiss grauweiss, bzw mehr gelblich, der Dotter honiggelb, die Consistenz des ersteren ziemlich dünnflüssig, des letzteren zähflüssig. Nur bei einem reichlicheren Gehalt der Eier an H_2S war eine wesentliche Veränderung gegenüber diesem häufigsten Befunde zu beobachten. Um so auffallender war das Ergebnis bei Ei Nr. 20, welches für Auge und Geruch von einem völlig frischen Ei nicht zu unterscheiden war, trotzdem sich in allen untersuchten Einzelproben desselben massenhaft Cholerabacterien in Reincultur vorfanden. Die Reaction der Eier war meist mehr oder weniger

Tabelle I.

Nr.	Geruch	Farbe des		Consistenz d.		Reaction	H_2S	Mikrosk. Präp. v.		Culturen				
		Eiweiss	Eigelb	Eiweiss	Eigelb			Eiweiss	Eigelb	1 Ag. R.	2 Ag. R.	1 Tr. Ag. R.	2 Tr. Ag. R.	Gelatineplatten
1	stark süsslich aromat.	graugelb	honiggelb	dünnflüssig	zähflüssig	stark alkalisch	sehr spärlich	rein	rein	rein	rein	rein	rein	rein
2	widerlich süsslich	grauweiss	"	"	"	ganz schwach alkalisch	"	"	"	"	"	"	"	"
3	süsslich-aromatisch	"	do. aussen grünlich	"	geballt	"	"	"	"	"	unrein Coccen 10 Colonieen	"	"	"
4	stark süsslich	"	do.	"	"	stark alkalisch	deutlich	"	"	"	rein	"	"	"
5	schwach aromat.	grau	honiggelb	sehr dünn	zähflüssig	"	sehr spärlich	"	"	unrein Stäbchen, Sarcinen, Staphyloc.	unrein wie b. 1. R (18 Col.)	unrein nur Stäbchen	unrein nur Stäbchen	stark verunrein. durch Sarcinen u. Diplococc.
6	schwach, zugleich brenzlich	graugelb	"	dünnflüssig	"	schwach alkalisch	deutlich	"	"	rein	rein	rein	rein	rein
7	stark süsslich-aromat.	"	"	"	"	stark alkalisch	kein	"	"	"	"	"	"	"
8	schwach, zugleich brenzlich	grau	gelb	ganz dünn	geballt	"	"	spärlich kleine Coccen in Haufen	"	"	"	"	unrein grosse Stäbchen	"
9	stark süsslich-aromat.	graugelb	honiggelb	dünnflüssig	zähflüssig	schwach alkalisch	sehr spärlich	rein	"	"	"	"	rein	"
10	do.	"	"	"	"	stark alkalisch	kein	scheinbar ganz kleine Stäbchen	"	"	"	"	"	"

Fortsetzung zu Tabelle I.

Nr.	Geruch	Farbe des		Consistenz d.		Reaction	H_2S	Mikrosk. Präp. v.		Culturen				
		Eiweiss	Eigelb	Eiweiss	Eigelb			Eiweiss	Eigelb	1 Ag. R.	2Ag.R.	1 Tr. Ag. R.	2 Tr. Ag. R.	Gelatineplatten
11	schwach, zugleich brenzlich	graugelb	honiggelb	dünnflüssig	zähflüssig	schwach alkalisch	kein	rein	rein	rein	rein	rein	rein	rein
12	stark süsslich-aromat.	,,	,,	,,	,,	sehr stark alkalisch	,,	ausser Kommas Coccen und Stäbchen	,,	,,	,,	,,	,,	,,
13	do.	,,	,,	,,	,,	schwach alkalisch	,,	sehr grosse Stäbchen	,,	,,	unrein sehr grosse Stäbch.	,,	,,	unrein sehr grosse Stäbchen
14	do.	,,	,,	,,	,,	sehr stark alkalisch	,,	rein	,,	,,	rein	,,	,,	rein
15	do.	,,	,,	,,	,,	,,	,,	gerade in d. Mitte ungef. Stäbchen	wie Eiweiss	unrein Stäbchen	unrein Stäbchen	unrein Stäbchen	unrein Stäbchen	unrein Stäbchen
16	do.	,,	,,	,,	,,	,,	,,	rein	rein	rein	rein	rein	rein	rein
17	do.	schmutzig grau	,,	sehr dünnflüssig	,,	schwach alkalisch	reichlich	,,	,,	,,	,,	,,	,,	,,
18	schwach, zugleich brenzlich	graugelb	,,	dünnflüssig	,,	stark alkalisch	kein	,,	,,	,,	,,	,,	,,	,,
19	nach H_2S	schmutzig grau	grünschwarz	sehr dünnflüssig	,,	schwach alkalisch	sehr reichlich	,,	,,	,,	,,	,,	,,	,,
20	geruchlos	wie bei	frischem,	ungeimpftem	Ei	stark alkalisch	kein	,,	,,	,,	,,	,,	,,	rein, überall reichliche Entwickelg.
21	etwas faulig	schmutzig grau	grünschwarz	sehr dünnflüssig	zähflüssig	amphoter.	ziemlich reichlich	unrein gerade Stäbchen	,,	,,	unrein Stäbchen	unrein Stäbchen	unrein Stäbchen	rein

deutlich alkalisch, in einem Falle nur wurde bei einem stark verunreinigten Ei auch blaues Lackmuspapier schwach geröthet. Doch darf ich hier vielleicht anführen, dass ich bei einer später geimpften Serie von mit Cholera geimpften Eiern auffallend häufig amphotere, ja in einzelnen Fällen sogar schwach saure Reaktion gefunden habe. Was den Gehalt der Eier an H_2S betrifft, so fand sich kein solcher nach 19tägigem Aufenthalt im Brütschrank bei 11 Eiern; davon waren nachweisbar verunreinigt fünf. Sehr spärlich vorhanden war er bei fünf Eiern, von denen zwei Verunreinigungen aufwiesen; und mehr oder weniger reichlich fand sich H_2S bei fünf Eiern, von denen eines nicht Reincultur war. Hervorzuheben ist noch, dass durchaus nicht in allen Fällen H_2S-Gehalt und geschwärzte Schale sich deckten. Es fand sich Schwefelwasserstoff reichlich in ganz weissschaligen Eiern, und umgekehrt fehlte derselbe oder war wenigstens nicht nachzuweisen in Eiern mit ganz geschwärzter Schale. Diese Erscheinung und eine später beobachtete Thatsache, dass nämlich mit Cholera geimpfte Eier, die in einem sonst ganz leeren, längere Zeit nicht benutzten Brütschank gehalten waren, sämmtlich überhaupt keine Färbung ihrer Schale zeigten, veranlasst mich, einen bestimmenden Einfluss von aussen her, von den übrigen im Brütschrank befindlichen, H_2S producirenden Bacterienarten auf das Aussehen der Schale für wahrscheinlich zu halten. Dass ein so grosser Theil der inficirten Eier H_2S nicht mehr nachweisen liess, findet meiner Ansicht nach eine genügende Erklärung in dem späten Termin der Oeffnung der Eier, aus denen sich während der langen Zeit wahrscheinlich der H_2S verflüchtigt hatte. Jedenfalls ist in dem Ergebnis der Untersuchung auf H_2S eine Stütze für die Ansicht R. Pfeiffer's[1]), mit der dieser Autor freilich auch ganz allein steht, dass nur in verunreinigten Eiern Schwefelwasserstoff gebildet werde, nicht zu finden. Vielmehr glauben wir zu dem Schluss, dass auch in reinen Cholera-Eiculturen reichlich H_2S gebildet wird, um so mehr berechtigt zu sein, als die Untersuchung auf die Reinheit

1) R. Pfeiffer. Studien zur Choleraätiologie. Zeitsch. f. Hygiene und Infectionskrankheiten, Bd. XVI, S. 268.

der Culturen mit bisher wohl nirgends angewandter Gründlichkeit vorgenommen wurde. Es ist von vornherein einleuchtend, dass ein so voluminöser Körper wie ein Hühnerei, zumal wenn er längere Zeit aufgehoben war, den mannigfachsten Infectionen ausgesetzt gewesen sein kann, ohne dass es nothwendig zu einer allgemeinen Verbreitung des Infectionsmaterials innerhalb des Nährbodens kommen müsste. Vielmehr wird die eigenthümliche Consistenz des Nährbodens besonders nichtbeweglichen Bacterienarten gegenüber — und diese finden sich sehr häufig als Verunreinigung — oft genug eine Beschränkung der Ausbreitung aufzwingen, derart, dass solche Bacterien nur in Form kleinerer oder grösserer Heerde innerhalb des grossen Haufens von Nährmaterial sich entwickeln. Um solche Verunreinigungen nachzuweisen, bedarf es natürlich einer möglichst sorgfältigen Untersuchung, vor Allem ist die Entnahme von möglichst vielen Einzelproben aus den verschiedensten Theilen des Eiinhalts nothwendig, wenn man ein wirklich gültiges Urtheil sich bilden will. Natürlich muss dabei auch auf eine etwaige Anaerobiose der verunreinigenden Bacterienarten Bedacht genommen werden. Diese Erwägungen bildeten den Anlass dafür, dass die culturelle Untersuchung der Eier in der oben angegebenen, etwas umständlich erscheinenden Weise vorgenommen wurde. Von den acht in obiger Tabelle angeführten, als verunreinigt ausgeschiedenen Eiern zeigten zwei eine Verunreinigung auf sämmtlichen Nährböden; vier zeigten einen oder mehrere Einzelproben als frei von fremden Organismen, und bei zweien waren sämmtliche zu Culturen entnommene Theilchen in sich Reinculturen von Cholera, während im mikroskopischen Präparat, in dem einen Falle ganz deutlich, fremde Organismen nachweisbar waren. Aus den angeführten Untersuchungsergebnissen ziehe ich den Schluss — und derselbe wird durch die später mitzutheilenden Tabellen der mit den anderen Vibrionenarten geimpften Eier bestätigt —, dass es bei der Beurtheilung der Reinheit oder Unreinheit einer Eicultur weniger auf ein bestimmtes Züchtungsverfahren bzw. auf die mikroskopische Untersuchung ankommt, als darauf, dafs möglichst viele Proben aus

den verschiedensten Theilen des Eies der Behandlung unterworfen werden, die natürlich auf gewisse besondere Eigenschaften der verunreinigenden Organismen, vor Allem auf etwaige Anaerobiose, gehörige Rücksicht zu nehmen hat.

Es sei hier gleich mitgetheilt, dass die Prüfung der direct aus dem Eiinhalt geimpften Choleraculturen eine nicht unbedeutende **Steigerung der Virulenz** des Bacterienmaterials erkennen liess. Von dem ersten Agarröhrchen des Eies Nr. 6 wird der Bacterienrasen nach 24 Stunden Wachsthum abgekratzt in gewohnter Weise und mit Theilen desselben vier Meerschweinchen geimpft.

Nr.	Gewicht	Temp. vorher	Menge des Impfstoffes	Temperatur nach 2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	Erfolg
4	480 g	38,2	1/4 Ch. Ag. C. Ei 6 24 Std. alt	37,0	36,5	36,0	35,4	†
5	395 „	38,1	1/8 do.	38,0	37,0	35,2	34,5	†
6	370 „	38,0	1/16 do.	38,0	37,2	36,5	35,0	†
7	400 „	38,2	1/32 do.	38,4	39,5	37,0	36,0	lebt

Die zum letalen Effect ausreichende Dosis ist also gegen die Prüfung vom 16. III. 94 um das Vierfache geringer, und man würde daraus auf eine gleich hohe Verstärkung der Virulenz schliessen können, wenn nicht das zuletzt geprüfte Agarröhrchen durch Mitausstreichen von Eiinhalt auf seiner Oberfläche zu einem gegen den früheren ganz differenten Nährboden geworden wäre.

Die 13 Choleraeier, bei denen weder durch verschiedene Culturverfahren noch durch das mikroskopische Präparat eine Verunreinigung hatte nachgewiesen werden können, wurden noch am 5. IV. Abends in 3900 ccm absoluten Alkohols tropfenweise eingeschüttet, und der Niederschlag bis zum nächsten Morgen stehen gelassen. Dann wurde filtrirt, mit absolutem Alkohol ausgewaschen, so lange derselbe noch eine gelbe Färbung beim Passiren des Niederschlags annahm, der Niederschlag abgepresst, bis zum nächsten Morgen über H_2SO_4 im Vacuum getrocknet,

das trockene Pulver mit 1200 ccm sterilen destillirten Wassers 3 Stunden im Brütschank digerirt, dann filtrirt und das Filtrat in verschiedenen Mengen Meerschweinchen intraperitoneal eingespritzt.

Nr.	Gewicht	Temp. vorher	Menge des injicirten Extractes in ccm	Temperatur nach					Gewichtsveränderung	Tag d. Mindestgewichts nach Impftag
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.		
8	490 g	38,2	1,0	39,2	38,5	37,5	36,2	36,5	— 10 g	1
9	460 „	38,0	2,0	38,5	38,2	36,9	36,0	37,8	+ 10 „	1
10	490 „	38,2	3,0	38,9	38,1	37,0	36,3	38,0	— 15 „	1
11	410 „	38,0	4,0	38,6	38,0	37,3	35,7	36,5	— 25 „	1
12	550 „	38,4	5,0	38,6	37,5	37,0	35,9	38,3	— 10 „	1

Sämmtliche Thiere blieben am Leben und zeigten auch in den Stunden nach der Einimpfung des Extracts keine wesentlichen Krankheitserscheinungen. Sie sassen zusammengekauert auf einem Haufen in einer Ecke des Käfigs und hatten etwas Muskelzittern; am nächsten Morgen waren sie alle ganz munter und fresslustig, auch die, welche noch eine Herabsetzung ihrer Eigenwärme hatten. Der Gewichtsverlust war schon am zweiten Tage nach der Impfung bei allen wieder ausgeglichen. Jedenfalls zeigt die Temperaturerniedrigung eine gewisse Wirkung des Extractes an. Auffallend war nun, dass nach siebentägigem Aufenthalt im Eisschrank das noch sterile Extract nicht unbedeutend an Wirkung eingebüsst hatte.

Nr.	Gewicht	Temp. vorher	Menge des injicirten Extractes in ccm	Temperatur nach					Gewichtsveränderung	Tag d. Mindestgewichts nach Impftag
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.		
13	470 g	38,4	1,0	38,5	38,8	38,5	38,0	38,4	± 0 g	1
14	460 „	38,1	2,0	38,7	39,3	38,7	38,0	38,0	± 0 „	1
15	470 „	38,2	3,0	38,0	38,6	38,2	37,4	38,3	— 16 „	2
16	475 „	38,2	4,0	37,6	38,0	37,6	36,9	38,0	— 15 „	2
17	460 „	38,5	5,0	36,4	37,5	36,7	36,4	38,2	— 14 „	2

Auch eine Eindickung des Extracts zu dieser Zeit auf ein Zehntel seines Volums liess eine Steigerung der giftigen Eigenschaften nicht hervortreten.

Nr.	Gewicht	Temp. vorher	Menge des injicirten Extracts in ccm	Temperatur nach					Gewichtsveränderung	Tag d. Mindestgewichts nach Impftag
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.		
18	505 g	38,4	5,0 conc. Extract	36,0	38,0	39,0	38,0	38,5	— 25 g	2
19	520 „	38,3	4,0 do.	37,8	38,5	38,0	37,7	38,6	— 28 „	2
20	540 „	38,5	3,0 do.	37,0	38,7	38,1	37,8	38,0	— 20 „	2
21	510 „	38,1	2,0 do.	38,2	39,6	38,7	38,3	38,8	— 14 „	2
22	510 „	38,2	1,0 do.	38,6	37,5	38,2	37,4	38,0	— 25 „	2

Obwohl man gerade bei diesen im Gewicht so gut übereinstimmenden Thieren eine regelmässige Steigerung der Wirkung mit der steigenden Dosis hätte erwarten sollen, ist die Temperaturcurve sowohl wie der Gewichtsverlust ein ganz unregelmässiger. Auch der Verlauf der Temperaturveränderung ist ein wesentlich anderer, indem einer anfänglichen Erniedrigung sehr bald die Rückkehr zur Norm und eine geringe Erhöhung folgt. Jedenfalls steht hier die Wirkung zur Concentration in gar keinem Verhältnis.

Von der Erwägung ausgehend, dass das supponirte Choleragift nicht nothwendig ein Eiweisskörper, auch nicht nothwendig durch Alkohol fällbar, bzw. mit dem sich bildenden Niederschlag niedergerissen werden müsse, dass vielmehr die Möglichkeit des Uebergehens eines giftigen Körpers in das alkoholische Filtrat bisher durch Versuche wenigstens nicht ausgeschlossen sei, hielt ich es für zweckmässig, den stark gelb gefärbten Alkohol abzudestilliren und den Rückstand desselben auf seine Wirkung auf Meerschweinchen zu prüfen. Die Vertreibung des Alkohols wurde bei einem Theil auf heissem Wasserbade, bei einem anderen im Vacuum über H_2SO_4 bei Zimmertemperatur vorgenommen. Der den Boden bedeckende dicke gelbe Rückstand, der dem Aeusseren nach hauptsächlich aus Fettkörpern oder ähnlichen Stoffen bestand, nicht mehr nach Alkohol roch und auch keine Jodoformprobe mehr gab, wurde mit 15 ccm sterilen destillirten Wassers von 35° C. aufgenommen, wobei sich eine weissliche, stark mit dicken Fetttropfen untermischte Emulsion bildete, und diese Flüssigkeit mit

sehr weiter Canüle in verschiedenen Mengen Meerschweinchen intraperitoneal injicirt. Der Erfolg war überraschend.

Nr.	Gewicht	Temp. vorher	Menge des injicirten Extractes in ccm	Temperatur nach					Gewichtsveränderung	Tag d. Mindestgewichts nach Impftag
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.		
23	485 g	38,3	**1,0** ccm Rückstand von 1/2 l Alkohol, heiss dest., mit 15,0 ccm H_2O aufgenommen	36,2	36,8	36,4	35,8	36,9	— 15 g	1 † am 2. Tag
24	420 „	38,2	**2,0** ccm wie 23	35,2	28,5	27,0	24,0	†		
25	490 „	38,1	**3,0** ccm wie 23	32,0	27,5	†				
26	445 „	38,2	**4,0** ccm wie 23	33,0	24,0 gleich darauf †					
27	450 „	38,2	**5,0** ccm wie 23	30,0	25,0 wie 26 †					
28	360 „	37,8	**1,0** ccm Rückstand von 1/2 l Alkohol, kalt dest. mit 15,0 ccm H_2O aufgenommen	36,9	39,0	38,0	—	37,7	— 10 „	1 lebt
29	350 „	37,9	**2,0** ccm wie 28	36,5	37,9	37,0	—	37,6	— 30 „	2 lebt
30	440 „	38,0	**3,0** ccm wie 28	37,6	38,4	37,9	—	38,3	— 20 „	1 lebt
31	420 „	38,2	**4,0** ccm wie 28	37,2	38,5	37,8	—	38,4	— 10 „	1 lebt
32	370 „	37,9	**5,0** ccm wie 28	35,9	37,0	36,4	—	38,0	— 30 „	1 lebt

Zunächst wurde an einem neuen Rückstande nachgewiesen, dass es sich nicht um Schwefelwasserstoff bei dieser überraschenden Wirkung handelte. Dann galt es festzustellen, ob nicht doch die Wirkung auf einen noch restirenden Alkohol-Gehalt zurückzuführen sei. Es wurde daher ein neuer Rückstand hergestellt und derselbe nach dem scheinbar völligen Abdestilliren des Alkohols noch längere Zeit über dem Wasserbade erwärmt, dann einige Tage auf Eis stehen gelassen und nun erst mit H_2O aufgenommen und eingespritzt. Diesmal zeigte sich nicht die geringste Wirkung. Der Versuch wäre beweisend, wenn nicht bei der späteren längeren Erhitzung eine Veränderung des Rückstandes eingetreten wäre, die sich auch äusserlich durch eine starke Bräunung desselben documentirte. Immerhin glaube ich,

dass es sich um Alkohol-Wirkung im vorliegenden Falle handelt. Dafür spricht mir ausser obigem zweiten Versuch vor allem der Gang der Temperatur bei Thier 23 bis 27; die anfängliche rapide Senkung und dann der Exitus letalis sofort oder nach einem gewissen Verharren bei derselben Eigenwäre; und ferner die überraschende Aehnlichkeit, welche bei einem Controlversuch mit Alkohol intraperitoneal vergiftete Thiere in jeder Beziehung mit den obigen darboten.

II. V. Danubicus-Eier und -Ei-Extracte.

Die Cultur des Vibrio Danubicus, welche zu den Impfungen benützt wurde, ist dem hygienischen Institut durch die Güte des Herrn Professors Gruber sehr bald nach der Heider'schen Veröffentlichung zur Verfügung gestellt worden. Die Nachprüfungen mit dieser Cultur haben eine völlige Uebereinstimmung mit den von Heider[1]) im Centralblatte für Bacteriologie und Parasitenkunde mitgetheilten Ergebnissen über culturelle und pathogene Eigenschaften derselben geliefert, und es kann daher hier im allgemeinen auf diese Veröffentlichung verwiesen werden. Es sei nur kurz hervorgehoben, dass der Vibrio Danubicus diejenige unter den neuerdings beschriebenen aus Flusswasser gezüchteten Vibrionen-Arten ist, die sich am leichtesten, schon morphologisch, von den Cholera- und choleraähnlichen Bacterien unterscheidet. Im gefärbten Präparat sieht man die äusserst schlanken, meist starkgekrümmten Vibrionen sehr häufig derart zu einander gelagert, dass sie concentrische Halbkreise bilden, eine Erscheinung, die ich bisher niemals in dieser Weise bei anderen Vibrionen beobachtet habe. Die Verflüchtigung der Gelatine ist anfangs äusserst langsam und mehr in die Tiefe als in die Breite gehend, ganz ähnlich wie bei Cholera asiatica. Vom dritten, vierten Tage an aber eilt der Danubicus-Stich dem Cholera-Stich meist weit voraus, und in kurzer Zeit ist dann meist ein kräftiges Breitenwachsthum entwickelt. Die Nitroso-Indolreaction in 1 % Peptonwasser ist schon ganz deutlich nach 5 Stunden Aufenthalt im Brütschrank.

1) Heider. Centralbl. f. Bact. u. Parasitenk., 1893, I.

Auf Agar tritt das Wachsthum, wie bei allen Vibrionen sehr schnell ein, wenn derselbe bei 37° C. gehalten wird, derart, dass schon nach 4—5 Stunden der Impfstich mit einem dünnen Bacterienrasen deutlich bedeckt ist. Sehr bemerkenswert ist bei der Agarcultur die ausserordentliche Zunahme noch in den zweiten 24 Stunden; am zweiten Tage überzieht meist eine dicke, sattweisse Bacterienmasse die ganze Oberfläche des Nährbodens. Die Virulenz des Vibrio Danubicus für Versuchsthiere ist eine ganz beträchtliche. Die Cultur, welche zur Impfung der Eier benützt wurde, hatte im Schwester-Agarröhrchen folgende Virulenz, Meerschweinchen intraperitoneal eingespritzt:

Nr.	Gewicht	Temp. vorher	Menge des Impfstoffes	Temperatur nach				Erfolg
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	
33	340 g	38,6	1/8 Danubicus Ag. C. 24 Std. alt	33,5	32,0	30,0	†	
34	290 „	38,7	1/16 do.	35,0	31,0	28,0	†	
35	380 „	38,0	1/30 do.	36,5	35,0	34,0	34,2	†
36	370 „	38,1	1/40 do.	37,0	36,0	35,5	34,0	lebt
37	330 „	38,3	1/50 do.	37,0	36,0	35,8	36,0	lebt

Von den mit dieser hochvirulenten Cultur geimpften 25 Eiern sind nach 19tägigem Aufenthalt im Brütschrank am 10. IV. 94 20 Eier brauchbar. Von diesen sind sieben ganz weissschalig, elf mit mehr oder weniger zahlreichen kleinen schwarzbraunen Flecken versehen, zwei sind ganz stark geschwärzt. Der übrige Befund bei diesen Eiern geht aus Tabelle II hervor. (Folgt Tabelle II auf S. 370 u. 371.)

Bei Betrachtung dieser Zusammenstellung fällt zunächst die grosse Zahl der verunreinigt gefundenen Eier in's Auge; nur bei 6 von 20 konnte eine Verunreinigung auf keine Weise nachgewiesen werden. Im Uebrigen wird diese Tabelle in jeder Weise zur Bestätigung dessen dienen können, was bei den Cholera-Eiern gesagt wurde. Die nicht verunreinigt gefundenen Eier zeigten im allgemeinen ein gut übereinstimmendes Verhalten unter sich und mit den mit Cholera geimpften Eiern. Bei allen

Tabelle II. **Danubicus-Eier.**

Nr.	Geruch	Farbe des		Consistenz d.		Reaction	H_2S	Mikrosk. Präp. v.		Culturen				
		Eiweiss	Eigelb	Eiweiss	Eigelb			Eiweiss	Eigelb	1 Ag. R.	2 Ag. R.	1 Tr. Ag. R.	2 Tr. Ag. R.	Gelatineplatten
1	schwach aromat. Spur H_2S	grauweiss	schwarzgrün	dünnflüssig	geballt	amphoter	reichlich	rein	rein	rein	rein	rein	rein	rein
2	"	"	"	"	"	"	sehr reichlich	"	"	"	"	"	"	"
3	aromat. deutlich nach H_2S	schmutzig grau	"	sehr dünnflüssig	"	"	reichlich	sehr kleine Kurzstäbchen	"	"	unrein Kurzstäbchen	"	unrein Kurzstäbchen	unrein Kurzstäbchen
4	"	"	"	dünnflüssig	"	"	sehr reichlich	rein	"	"	rein	"	unrein Diplococcen	unrein Sarcinen, Diplococcen
5	schwach aromat. Spur H_2S	"	"	"	"	"	schwach	"	"	"	"	"	rein	rein
6	"	grauweiss	"	"	"	"	sehr reichlich	"	"	"	"	"	"	"
7	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
8	schwach brenzlich	hellgelb	goldgelb	ganz dünn	breiig seimig	sauer	keine Spur	kleine Stäbchen	wie Eiweis	"	unrein Stäbchen	unrein Stäbchen	unrein Stäbchen	unrein Stäbchen, Sarcinen, Hefen
9	schwach aromat. deutl. H_2S	grauweiss	schwarzgrün	dünnflüssig	geballt	amphoter	sehr reichlich	rein	rein	"	rein	rein	rein	rein
10	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	unrein. 20 Col. dicker grosser Stäbchen

Fortsetzung zu Tabelle II.

Nr.	Geruch	Farbe des		Consistenz d.		Reaction	H_2S	Mikrosk. Präp. v.		Culturen				
		Eiweiss	Eigelb	Eiweiss	Eigelb			Eiweiss	Eigelb	1. Ag. R.	2 Ag. R.	1. Tr. Ag. R.	2. Tr. Ag. R.	Gelatineplatten
11	schwach aromat. deutl. H_2S	grauweiss	schwarzgrün	dünnflüssig	geballt	amphoter	sehr reichlich	plumpe Kurzstäbchen	wie Eiweiss	unrein Kurzstäbchen	unrein Kurzstäbchen	unrein schlanke Stäbchen	unrein schlanke Stäbchen	unrein. Col. aus langen Fäden bestehend
12	deutlich brenzlich	grünlichgelb	honiggelb	„	theils dünn theils zähflüs.	„	kaum eine Spur	keinste Coccen, daneben massenhaft Vibrionen		rein	unrein Coccen	unrein Coccen u. Stäbchen	unrein Coccen u. Stäbchen	rein
13	„	graugelblich	schwarzgrün	„	geballt	„	reichlich	Stäbchen od. Diplococcen	rein	„	rein	rein	rein	„
14	„	grauweiss	goldgelb	„	„	„	keine Spur	neben Vibrionen massenhaft grosse und kleine Stäbchen		„	„	„	unrein Stäbchen	„
15	schwach aromat. Spur H_2S	„	grünschwarz	„	„	„	ganz schwach	rein	rein	„	unrein Stäbch. und Coccen	„	unrein Stäbchen u. Coccen	unrein Coccen, Stäbchen
16	stark nach H_2S	„	„	„	„	„	sehr reichlich	„	„	„	unrein dünne Stäbchen	„	unrein dunne Stäbchen	unrein dünne Stäbchen
17	„	„	„	„	„	„	deutlich	„	„	unrein 4 Coccencolonien	rein	„	rein	rein
18	brenzlich	„	„	„	„	schwach alkalisch	reichlich	„	„	rein	„	„	„	unrein stark verfl. Diplococc.
19	„	„	goldgelb	„	„	„	keine Spur	dicke Coccen	„	„	„	„	unrein dicke Coccen	unrein braune, wetzsteinf. Colonien
20	schwach brenzlich	„	schwarzgrün	„	„	amphoter	ganz schwach	rein	„	„	„	„	unrein grosse Stäbch.	rein

war das Eiweiss dünnflüssig und grauweiss, der Dotter grünlich-schwarz, wenigstens aussen, während er im Innern auch bei diesen Eiern sich honiggelb darstellte; seine Consistenz war meist geballt, etwas fester als bei den Choleraeiern Die Reaction war immer deutlich amphoter, der Gehalt an H_2S fast immer sehr reichlich, schon durch den Geruch nachweisbar, welch' letzterer im übrigen völlig mit dem der Choleraeier übereinstimmte.

Auch der schon vor der Ei-Impfung hochvirulente Vibrio Danubicus war, als er von dem zweiten Agarröhrröhrchen des Eies Nr. 7 nach 24 stündigem Wachsthum bei 37° C. abgekratzt wurde, wesentlich wirksamer auf Meerschweinchen geworden.

Nr.	Gewicht	Temp. vorher	Menge des Impfstoffes	Temperatur nach				Erfolg
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	
38	320 g	38,0	1/40 Danubicus Ag. C. 24 Std. alt	37,0	35,0	33,5	30,0	†
39	340 „	38,1	1/50 do.	37,6	36,2	34,0	34,5	†
40	300 „	37,9	1/60 do.	39,2	37,6	36,8	36,5	lebt

Die sechs nicht verunreinigt befundenen Danubicus-Eier wurden, da es bei ihnen gelungen war, Eiweiss und Eigelb gesondert aufzufangen, in zwei getrennte Portionen Alkohol gebracht und im übrigen genau in der oben bei den Cholera-eiern angegebenen Weise weiter behandelt. Die so gewonnenen Extracte haben auf Meerschweinchen bei intraperitonealer Injection folgende Wirkung.

Nr.	Gewicht	Temp. vorher	Menge des injicirten Extractes in ccm	Temperatur nach					Gewichtsveränderung	Tag d. Mindestgewichts nach Impfung
				2 St.	4 St	6 St.	8 St	19 St.		
41	330 g	38,0	**1,0** ccm Extract Eigelb Danubicus	38,6	38,0	37,5	—	38,2	+ 5 g	1.
42	330 „	37,9	**2,0** ccm wie 41	38,0	38,9	37,9	—	38,0	± 0 „	1.
43	330 „	37,8	**3,0** ccm wie 41	38,0	37,8	37,0	—	37,7	— 10 „	1.
44	305 „	37,8	**4,0** ccm wie 41	38,2	37,9	37,5	—	38,0	— 10 „	1.
45	305 „	37,7	**5,0** ccm wie 41	38,7	38,0	37,6	—	37,8	— 5 „	1.

Nr.	Gewicht	Temp. vorher	Menge des injicirten Extractes in ccm	Temperatur nach					Gewichtsveränderung	Tag d. Mindestgewichts nach Impftag
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.		
46	315 g	38,0	1,0 ccm Extract Eiweiss Danubicus	38,7	38,0	38,2	—	38,0	— 5 g	2.
47	310 „	37,9	2,0 ccm wie 46	38,5	37,9	38,1	—	37,9	— 5 „	1.
48	310 „	38,0	3,0 ccm wie 46	37,4	36,9	36,0	—	†		(Tuberkulose in Milz u. Lungen. Ausstriche aus Herzblut steril)
49	300 „	37,8	4,0 ccm wie 46	38,7	38,2	37,4	—	37,9	∓ 0 „	1.
50	335 „	38,0	5,0 ccm wie 46	36,5	37,0	37,9	—	38,1	— 25 „	2. († nach 11 Tagen. Im Blut nur Bact. coli commune)

Die Wirkung dieses wässerigen Auszuges aus dem Danubicus-Culturen-Niederschlag war also eine äusserst geringe. Eine Temperaturherabsetzung um wenige Zehntel Grade ist eigentlich Alles, was sich nachweisen lässt, ausgenommen das eine tuberculös inficirte Meerschweinchen. Auch lässt sich ein wesentlicher Unterschied zwischen dem Extract aus dem Niederschlag des Eiweiss und aus dem des Eigelb nicht feststellen. Jedenfalls ist die Wirkung dieser Danubicus-Extracte eine wesentlich schwächere, als diejenige, die wir bei den ersten Einspritzungen der Cholera-Ei-Extracte beobachten konnten.

III. V. Berolinensis-Eier und -Ei-Extracte.

Die zur Impfung verwandte Cultur des Vibrio Berolinensis, der im hygienischen Institut zu Berlin durch Neisser[1]) aus Leitungswasser, dem Cholerabacterien zugesetzt waren, isolirt und von Neisser und Günther[2]) in dieser Zeitschrift beschrieben ist, stimmte in ihren biologischen Eigenschaften im wesentlichen

1) Neisser. Ueber einen Wasservibrio, der Nitrosoindolreaction liefert. Archiv f. Hygiene, Bd. XIX, S. 194.

2) Günther. Weitere Untersuch. über den Vibrio Berolinensis. Archiv f. Hygiene, Bd. XIX, S. 214.

überein mit den erfolgten Mittheilungen. Die Virulenz dieses Mikroorganismus für Meerschweinchen bei intraperitonealer Infection war zur Zeit der Impfung der 25 Eier folgende:

Nr.	Gewicht	Temp. vorher	Menge des Impfstoffes	Temperatur nach				Erfolg
				2 St	4 St.	6 St.	8 St.	
51	390 g	38,0	1/4 Berol. Ag. C. 24 St. alt	33,0	31,5	† nach 5 1/2 St.		†
52	320 „	38,1	1/8 do.	36,0	33,0	31,0	31,5	†
53	380 „	37,9	1/16 do.	36,5	34,5	33,0	34,0	†
54	390 „	37,8	1/20 do.	37,0	35,0	34,5	35,0	lebt
55	390 „	38,0	1/30 do.	37,5	36,0	36,5	36,2	lebt

Gegenüber der Choleracultur war also die Virulenz eine ziemlich beträchtliche. Von den mit Vibrio Berolinensis geimpften 25 Eiern waren 20 zur Untersuchung brauchbar, die Schale von der Impfstelle aus nicht weiter gerissen. Der Aufenthalt im Brütschrank betrug, wie in den bisherigen Fällen, 19 Tage. Von den 20 Eiern waren bei der Oeffnung 16 ganz weiss, ohne jeden Fleck, zwei ganz dick gebräunt, zwei mit einzelnen kleinen, braunen Flecken versehen. Der Befund bei diesen Eiern ist in Tabelle III zusammengestellt. (Folgt Tabelle III auf S. 375 u. 376.)

Die Veränderungen, welche die nicht verunreinigt befundenen Eier erlitten haben durch die Impfung, sind im wesentlichen völlig dieselben, wie bei den anderen Vibrionenarten. Es ist unnöthig, darauf noch einmal des näheren einzugehen. Im übrigen kann auch diese Tabelle in Bezug auf die Befunde bei der mikroskopischen und culturellen Untersuchung sehr wohl als Bestätigung der oben bei den Choleraeiern entwickelten Ansichten bezüglich der Beurtheilung von Ei-Reinculturen dienen.

Auch bei diesem Organismus wurde die Virulenz nach dem Aufenthalt im Ei an einer mit Ei-Inhalt geimpften 24 stündigen Agarcultur (von Ei Nr. 11) festgestellt und eine Steigerung derselben gefunden. (Folgt die Tabelle auf S. 377 oben.)

Tabelle III. Berolinensis-Eier.

Nr.	Geruch	Farbe des		Consistenz d.		Reaction	H_2S	Mikrosk. Präp. v.		Culturen				
		Eiweiss	Eigelb	Eiweiss	Eigelb			Eiweiss	Eigelb	1. Ag.R.	2. Ag.R.	1. Tr. Ag. R.	2. Tr. Ag. R.	Gelatine-platten
1	widerl. süsslich arom. schwach nach H_2S	graugelb	aussen schwarzgrün, innen honiggelb	dünnflüssig	breiig	amphoter	reichlich	dicke Stäbchen neben Komma's		unrein auf allen neben Berol.Col. massenhaft weisse u. farbige Col.; Tr. A. Gasblasen	unrein	unrein	unrein	unrein
2	„	„	honiggelb	„	zähflüssig	alkalisch	keine Spur	rein	rein	rein	rein	unrein; Wachsthum in d. Tiefe des Stichs sehr kräftig; Coccen		rein
3	„	„	„	„	„	„	spärlich	scheinbar durch Diplococcen verunreinigt		unrein gelbe Colonien auf beiden	unrein	rein	rein	„
4	stark süsslich	„	grüngelb	„	„	„	keine Spur	rein	rein	rein	rein	„	„	„
5	schwach brenzlich	„	aussen schwarzgrün, innen honiggelb	„	„	amphoter	deutlich	dicke lange Stäbchen	feine lange Stäbchen	„	„	„	„	„
6	„	„	goldgelb	„	ganz flüssig	„	keine Spur	rein	rein	„	„	„	„	unrein Hefecolonien in der Tiefe
7	süsslich aromatisch schwach nach H_2S	„	aussen schwarzgrün, innen honiggelb	„	breiig	„	reichlich	„	„	„	unrein Stäbchen	„	„	unrein dunkelbraune dicke Col.
8	süsslich aromat.	grünlichgrau	„	„	„	„	sehr reichlich	„	„	„	unrein Coccen	„	unrein Gasblasen	rein
9	„	graugelb	„	„	„	stark alkalisch	keine Spur	„	„	stark verunr. mit weissen u. gelben Colonien		unrein; Wachsthum in d. Tiefe sehr kräft.; Cocc.		„
10	„ schwach	grauweiss	grünlich	sehr dünn	„	schwach alkalisch	spärlich	„	„	rein	rein	rein	rein	„

Fortsetzung zu Tabelle III.

Nr.	Geruch	Farbe des		Consistenz d.		Reaction	H_2S	Mikrosk. Präp. v.		Culturen				
		Eiweiss	Eigelb	Eiweiss	Eigelb			Eiweiss	Eigelb	1. Ag.R.	2. Ag.R.	1. Tr. Ag. R.	2. Tr. Ag. R.	Gelatineplatten
11	süsslich aromatisch schwach nach H_2S	gelbgrau	goldgelb	dünnflüssig	geballt	stark alkalisch	spärlich	rein	rein	rein	rein	rein	rein	rein
12	„	graugelb	„	„	ganz flüssig	amphoter	keine Spur	scheinbar kleine Kurzstäbchen		unrein grosse, weisse, lackartige Col.		unrein; Wachsthum in d. Tiefe sehr kräftig; Coccen		„
13	brenzlich	„	aussen schwarzgrün, innen honiggelb	„	geballt	schwach alkalisch	sehr spärlich	rein	rein	rein	rein	rein	rein	„
14	süsslich aromatisch schwach nach H_2S	„	honiggelb	„	dünnflüssig	„	deutlich	„	„	„	„	„	„	„
15	„	„	aussen schwarzgrün, innen honiggelb	„	geballt	„	reichlich	„	„	spärliche, kleine, grauweisse Col., lange, feine Bacillen		unrein; Wachsthum in d. Tiefe sehr kräftig; Stäbchen		„
16	deutlich nach H_2S	graugrün	„	„	dünnbreiig	„	sehr reichlich	„	„	wie bei Nr. 15; Stäbchen				„
17	süsslich aromatisch schwach nach H_2S	graugelb	honiggelb	„	flüssig	deutlich alkalisch	sehr spärlich	„	„	rein	rein	rein	rein	„
18	„	„	goldgelb	„	breiig	„	deutlich	„	„	„	„	„	„	unrein; in d. Tiefe lieg. dicke, weiss. Col.; Stäb.
19	„	gelbgrau	„	„	geballt	schwach alkalisch	„	„	„	„	„	„	„	rein
20	„	graugelb	„	„	„	stark alkalisch	keine Spur	„	„	„	„	„	„	„

Nr.	Gewicht	Temp. vorher	Menge des Impfstoffes	Temperatur nach				Erfolg
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	
56	410 g	38,7	1/20 Berol. Ag. C. 24 St. alt	38,0	37,6	34,5	32,0	†
57	380 „	37,9	1/30 do.	39,2	38,1	36,5	35,8	†
58	408 „	38,0	1/40 do.	37,0	38,4	37,2	36,7	lebt

Von 20 untersuchten Eiern zeigten nur acht bei den verschiedenen Untersuchungsmethoden keine Verunreinigung durch fremde Organismen. Diese acht Eier zeigten zum grössten Theil einen sehr spärlichen, bezw. gar keinen, zu einem kleinen Theil aber auch einen ganz deutlichen H_2S-Gehalt. Bei der weiteren Behandlung, die völlig in der oben beschriebenen Weise verlief, wurden Ei Nr. 14 und Nr. 17 nicht mit verarbeitet, da eine Trennung von Eiweiss und Dotter nicht völlig durchgeführt war. Die gewonnenen wässerigen Extracte zeigten eine ähnliche Wirkung auf Meerschweinchen, wie die bisher geprüften. Die Resultate sind aus der folgenden Zusammenstellung ersichtlich:

Nr.	Gewicht	Temp. vorher	Menge des injicirten Extractes in ccm	Temperatur nach					Gewichtsveränderung	Tag d. Mindestgewichts nach Impftag
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.		
59	490 g	38,5	**1,0** ccm Extract Eigelb Berolinensis	38,7	37,9	36,9	37,5	39,0	— 30 g	1.
60	500 „	38,0	**2,0** ccm wie 59	37,2	39,0	38,0	38,2	38,7	— 10 „	1.
61	480 „	38,5	**3,0** ccm wie 59	39,4	38,9	38,4	37,9	38,5	— 30 „	2.
62	480 „	38,5	**4,0** ccm wie 59	38,7	39,1	38,6	38,0	38,4	— 40 „	1.
63	480 „	38,4	**5,0** ccm wie 59	39,0	38,3	37,0	37,5	38,0	— 45 „	2.
64	400 „	38,0	**1,0** ccm Extract Eiweiss Berolinensis	38,7	38,0	37,9	37,5	38,3	± 0 „	1.
65	410 „	38,1	**2,0** ccm wie 64	36,5	36,2	36,0	35,8	37,4	— 40 „	2. († nach 16 Tagen an Streptococcen-Infection)
66	470 „	38,0	**3,0** ccm wie 64	37,1	37,0	37,8	37,1	37,8	— 20 „	1.
67	410 „	38,0	**4,0** ccm wie 64	38,8	38,5	38,2	37,6	38,0	— 25 „	1.
68	440 „	38,2	**5,0** ccm wie 64	37,1	37,0	37,7	38,2	38,4	± 0 „	1.

Auch diese Thiere zeigten äusserst geringe Krankheitserscheinungen nach der Impfung, die nicht von den oben schon beschriebenen abwichen. Immerhin ist hier die Temperaturherabsetzung etwas ausgesprochener als bei den Extracten des Vibrio Danubicus. Aber auch hier ist eine wesentliche Differenz zwischen Extract aus Eiweiss und dem aus Eigelb nicht zu entdecken. Sehr auffallend ist der äusserst geringe Unterschied in dem Gang der Temperaturcurve bei den niedrigen und den höheren Dosen. Ich kann mir denselben nur so erklären, dass neben der höheren Giftmenge auch eine entsprechend höhere Menge »schützenden oder immunisirenden« Stoffes mit eingespritzt wird, die nur die von ihr nicht paralysirte Menge des Giftes — in beiden Fällen annähernd dasselbe Quantum — zur Wirkung kommen lässt. Aber die Wirkungen überhaupt sind so wenig ausgesprochen, und die Temperaturerniedrigung tritt zu so verschiedenen Zeiten ein, dass es besser ist, keine weitgehenden Schlüsse aus diesen Ergebnissen zu ziehen. Das einzige Thier, das eine etwas stärkere Herabsetzung seiner Eigenwärme aufwies, hatte wahrscheinlich schon zur Zeit der Impfung die nach 16 Tagen bei der Section gefundenen Streptococcen im Körper und war deshalb weniger widerstandsfähig. Wissen wir doch, dass Meerschweinchen Wochen lang diese Mikroorganismen in sich beherbergen können, ohne wesentliche Krankheitserscheinungen darzubieten.

IV. Vibrio Dunbar-Eier und -Ei-Extracte.

Dieser Organismus ist von Dunbar[1]), wie bekannt, im Elbwasser zur Zeit der Hamburger Nachepidemie Anfang 1893 gefunden worden, zeigt alle typischen Merkmale der Choleraculturen auf den Nährböden, im Thierversuch und mikroskopisch und wurde von Dunbar nur deshalb nicht als Choleravibrio angesprochen, weil er im Dunkeln leuchtet. Die letztere Eigenschaft haben wir an der uns gütigst durch Herrn Professor Dunbar übermittelten Cultur nicht feststellen können. Dagegen

1) Dunbar. Arbeiten des Kais. Gesundheitsamtes, Bd XV.

schien es mir in einigen Fällen, als könnte der Organismus dadurch eine kleine Unterscheidung vom Cholerabacillus aufweisen, dass er auf Kartoffeln jeder Art sehr gut, auch bei Zimmertemperatur, gedeiht, wobei er eine stark röthliche Auflagerung, die viel stärker als bei Rotzbacillen gefärbt ist, zu bilden pflegt. Genauer ist der Gegenstand indessen von mir nicht verfolgt worden.

Die Virulenz dieses Bacteriums, Meerschweinchen intraperitoneal eingespritzt, war eine ziemlich bedeutende.

Nr.	Gewicht	Temp. vorher	Menge des Impfstoffes	Temperatur nach				Erfolg
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	
69	290 g	38,0	1/8 Dunbar Ag.C. 24 St. alt	33,0	31,5	27,0	†	
70	290 „	38,0	1/16 do.	35,0	34,0	31,5	31,0	†
71	280 „	37,8	1/20 do.	37,0	36,5	35,5	36,0	lebt
72	290 „	37,7	1/30 do.	37,5	38,2	37,0	36,0	lebt

Auch mit diesem Vibrio sind 25 Eier geimpft worden, von denen fünf nach 19tägigem Aufenthalt im Brütschrank durch ausgedehnte, von der Impfstelle ausgehende Risse unbrauchbar waren. Zwei gehen bei der Oeffnung durch Ungeschicklichkeit verloren, so dass nur 18 zur Untersuchung blieben. Die Schale war bei 14 Eiern ganz weiss, bei zweien mit einzelnen braunen Flecken versehen, bei zweien fast ganz braun verfärbt. Die umstehende Zusammenstellung berichtet von dem übrigen Verhalten. (Folgt Tabelle IV auf S. 380 u. 381.)

In Bezug auf die durch den Vibrio Dunbar in den Eiern hervorgerufenen Veränderungen kann ich mich ebenfalls kurz fassen. Dieselben sind genau dieselben, wie bei den Bacterien der Cholera asiatica und den anderen geprüften Vibrionenarten, vielleicht mit dem Unterschiede einer reichlicheren H_2S-Erzeugung, wenigstens im allgemeinen. Auffallend ist auch die häufig gefundene saure Reaction des Nährmaterials. Von den untersuchten Eiern waren neun, gerade die Hälfte, nicht nachweisbar verunreinigt; von diesen wurde noch Nr. 14 nicht verwendet zur Erzeugung des Niederschlags etc., da bei ihm infolge der flüssigen

Tabelle IV. **Dunbar-Eier.**

Nr.	Geruch	Farbe des		Consistenz d.		Reaction	H_2S	Mikrosk. Präp. v.		Culturen				
		Eiweiss	Eigelb	Eiweiss	Eigelb			Eiweiss	Eigelb	1. Ag. R.	2. Ag. R.	1. Tr. Ag. R.	2 Tr. Ag. R.	Gelatine-platten
1	schwach brenzlich	graugrün	dunkel-grün	dünn-flüssig	geballt	amphoter	reichlich	beide unrein grosse, starkgefärbte und kleine Stäbchen		rein	rein	rein	rein	unrein dicke Stäbchen
2	„	„	„	„	„	„	„	rein	rein	„	„	„	„	rein
3	nach H_2S deutlich	schmutz.-graugrün	„	„	„	„	sehr reichlich	lange, durch ganze Gesichtsfelder ziehende Fäden		unrein höckerig. Colonien		„	unrein Gasblasen unten	unr. gelbe tuberkelbac. ähnl. Col.
4	schwach brenzlich	graugrün	„	„	„	„	„	rein	rein	beide verunr. lackartig weisse Colonien		„	rein	unrein Coccen
5	deutlich nach H_2S	schmutz.-graugrün	„	„	„	„	„	unrein kräftige, dicke Stäbchen		beide verunr. Stäbchen		beide unrein grosse Gasblasen		unrein Stäbchen
6	schwach süsslich	graugrün	„	„	„	sauer	„	beide unrein kleine Stäbchen in d. Mitte ungef.		rein	unrein Diplo-Cocc.	rein	rein	rein
7	süsslich aromatisch	graugelb	honiggelb	„	breiig	amphoter	sehr spärlich	rein	rein	„	unrein kleine Stäb.	„	unrein Gasblasen	„
8	„	graugrün	dunkel-grün	„	„	sauer	sehr reichlich	„	„	„	rein	„	rein	„
9	widerlich süsslich aromat.	schmutz.-graugrün	„	„	geballt	„	„	„	„	„	„	„	unrein Gasblasen	unrein Coccen

Fortsetzung zu Tabelle IV.

Nr.	Geruch	Farbe des		Consistenz d.		Reaction	H_2S	Mikrosk. Präp. v.		Culturen				
		Eiweiss	Eigelb	Eiweiss	Eigelb			Eiweiss	Eigelb	1. Ag. R.	2. Ag. R.	1. Tr. Ag. R.	2. Tr. Ag. R.	Gelatine-platten
10	süsslich aromatisch	schmutz.-graugrün	dunkelgrün	dünnflüssig	geballt	amphoter	sehr reichlich	beide verunrein. grosse Stäbchen, ohne jede Krümmung		beide verunr. Stäbchen		beide verunr. grosse Gas blasen		unrein Stäbchen
11	„	gelbgrau	„	„	„	sauer	„	rein	rein	rein	rein	rein	rein	rein
12	„	„	„	„	„	amphoter	„	beide verunrein. gross. dick. Kapseldiplococcen		beide verunr. Kapselcoccen		beide verunr. stark. Wachsthum in der Tiefe		„
13	„	„	honiggelb	„	„	sauer	„	rein	rein	rein	rein	rein	rein	„
14	widerlich süsslich	schmutz.-grau	dunkel grün	„	breiig	amphoter	„	„	„	„	„	„	„	„
15	schwach süsslich aromat.	gelblich	honiggelb	„	geballt	„	„	„	„	„	„	„	„	„
16	„	braungelb	„	„	„	sauer	keine Spur	„	„	„	„	„	„	„
17	„	graugrün	dunkel grün	„	„	amphoter	sehr reichlich	„	„	„	„	„	„	„
18	„	„	„	„	„	„	reichlich	„	„	„	„	„	„	„

Beschaffenheit des Dotters eine Trennung desselben vom Eiweiss nicht gelungen war.

Die Prüfung der Virulenz des Vibrio Dunbar zu dieser Zeit, zu der das erste Agarröhrchen von Ei Nr. 8 verwendet wurde, fiel folgendermaassen aus:

Nr.	Gewicht	Temp vorher	Menge des Impfstoffes	Temperatur nach 2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	Erfolg
73	320 g	38,0	1/20 Dunbar Ag.C. 24 St. alt	35,5	35,0	33,5	—	†
74	300 „	38,0	1/30 do.	37,6	37,9	36,5	36,8	† nach 2 Tagen
75	340 „	38,2	1/40 do.	38,5	38,9	37,8	37,5	lebt

Mit den aus acht Eiern durch Alkoholfällung und die weitere oben angegebene Behandlung erhaltenen wässerigen Extracten der Niederschläge wurden bedeutend kräftigere Wirkungen bei Meerschweinchen erzielt, als in allen bisherigen Fällen.

Nr.	Gewicht	Temp. vorher	Menge des injicirten Extractes in ccm	Temperatur nach 2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	Gewichtsveränderung	Tag d. Mindestgewichts nach Impfung
76	300 g	37,8	1,0 ccm Extract Eigelb Vibrio Dunbar	38,4	38,6	37,8	37,0	38,0	— 40 g	1.
77	300 „	37,9	2,0 ccm wie 76	39,5	40,0	38,0	37,1	38,4	— 32 „	1.
78	310 „	37,9	3,0 ccm wie 76	37,9	37,6	36,0	35,9	37,5	— 30 „	2.
79	295 „	37,8	4,0 ccm wie 76	38,5	38,1	37,7	36,5	38,3	— 45 „	1.
80	300 „	37,8	5,0 ccm wie 76	37,8	37,0	35,9	35,5	36,5	— 35 „	2.
81	310 „	37,9	1,0 ccm Extract Eiweiss Vibrio Dunbar	38,6	37,3	37,0	36,8	38,2	— 35 „	1.
82	325 „	38,1	2,0 ccm wie 81	38,3	38,8	37,4	36,8	37,9	— 30 „	1.
83	340 „	38,1	3,0 ccm wie 81	37,4	37,2	36,5	36,2	38,4	— 30 „	1.
84	320 „	38,0	4,0 ccm wie 81	37,8	36,0	35,2	† nach 7 Std.	(Organe normal, Ausstriche auf Agar aus Herzblut und Bauchhöhlen-Flüssigkeit steril)		
85	360 „	38,1	5,0 ccm wie 81	39,0	37,6	36,5	36,0	38,6	— 25 „	1. († nach 11 Tagen, ohne Anfangsgewicht erreicht zu haben)

Abgesehen von der weit ausgiebigeren Temperaturherabsetzung bei allen Thieren, sehen wir also hier eine mit der Dosis steigende Wirkung und in zwei Fällen den Tod der geimpften Thiere eintreten. Da in beiden Fällen alle Organe normal gefunden wurden, und die culturelle Untersuchung der Körpersäfte ein negatives Resultat hatte, so ist wohl kein Zweifel, dass der Tod die Folge des eingespritzten Extractes gewesen ist. Hier ist also deutlich eine kräftige Giftwirkung vorhanden, die indessen eine für Cholerabacterien völlig typische ist, ebenso wie es die Krankheitserscheinungen nach der Impfung waren. Eine wesentliche Differenz zwischen der Wirkung des Eiweiss- und Eigelbextractes möchte ich aus dem Umstand, dass bei letzterem alle Thiere am Leben geblieben sind, nicht construiren.

V. Ungeimpfte Eier und deren Extracte.

Es bleibt mir übrig, die Ergebnisse der Untersuchung von 20 ungeimpften Eiern, die zur Controle dienten, mitzuteilen. Dieselben wurden in genau gleicher Weise wie die geimpften behandelt, nach Hueppe's Methode mit Sublimat, Alkohol und Aether gereinigt, 19 Tage in sterilisirter Doppelschale im Brütschrank gehalten, dann mit allen Vorsichtsmaassregeln geöffnet, und mikroskopisch und culturell genau in der oben geschilderten Weise geprüft. Der Kürze halber sei nur angegeben, dass die Schale der Eier in drei Fällen deutlich gebräunt war, obgleich sich in keinem Falle mit Bleiacetatpapier H_2S nachweisen liess; dass von 19 Eiern — eins ging durch Versehen verloren — stark verunreinigt waren auf allen Nährböden und mikroskopisch zwei; wenig verunreinigt (ein Agarröhrchen dreimal, Gelatineplatte einmal) vier; dass der Eiinhalt völlig dem frischer Eier glich, auch in den stark verunreinigten Eiern. Die Extracte wurden aus den dreizehn nicht nachweisbar verunreinigten Eiern in ganz dergleichen Weise hergestellt, wie bei den mit Vibrionenculturen geimpften. Dieselben wurden auch in derselben Weise an Meerschweinchen geprüft. Eine Trennung von Eiweiss und Eigelb war natürlich undurchführbar.

Nr.	Gewicht	Temp. vorher	Menge des injicirten Extractes in ccm	Temperatur nach					Gewichtsveränderung	Tag d. Mindestgewichts nach Impfung
				2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.		
86	300 g	38,2	**1,0** ccm Extract ungeimpft. Eier	38,1	38,0	38,0	37,8	37,9	± 0 g	1.
87	310 „	38,0	**2,0** ccm wie 86	38,0	37,9	38,1	38,0	37,9	— 10 „	1.
88	300 „	38,2	**3,0** ccm wie 86	38,2	38,4	38,3	38,5	38,0	± 0 „	1.
89	310 „	38,0	**4,0** ccm wie 86	38,4	38,0	38,0	37,9	38,1	+ 12 „	1.
90	310 „	38,0	**5,0** ccm wie 86	37,8	38,0	38,0	38,2	38,0	— 10 „	1.

Die Thiere lagen, wie alle intraperitoneal geimpften Meerschweinchen, einige Zeit nach der Impfung ruhig mit auseinandergespreizten hinteren Extremitäten auf dem Bauch, waren aber schon nach einer Viertelstunde wieder ganz munter und blieben es auch, ohne irgend welche Krankheitserscheinungen zu zeigen, wie ja auch aus der letzten Tabelle hervorgeht. Dass einige von den Thieren eine geringe, schnell vorübergehende Gewichtsabnahme zeigen, ist wohl nicht zu verwundern.

Mit diesen Versuchen war der erste Theil der mir aufgetragenen Arbeit abgeschlossen. Es hatte sich gezeigt, dass von den zur Untersuchung gezogenen Vibrionenarten der Eiinhalt in ziemlich übereinstimmender Weise verändert wurde, und dass sich auch in den aus dem Alkoholniederschlag solcher Eier gewonnenen wässerigen Extracten wesentlich die gleichen, wenn auch quantitativ recht verschiedenen Giftstoffe nachweisen lassen. Am schwächsten war die Wirkung dieser Gifte wunderbarer Weise bei dem Vibrio Danubicus, dem virulentesten unter diesen Vibrionen, am stärksten bei dem von Dunbar aus der Elbe gezüchteten choleraähnlichen Bacterium. Als Nebenergebnisse hatten sich bei der Untersuchung der Eier einige bemerkenswerthe Thatsachen ergeben, vor Allem die Schwierigkeit, eine Eicultur als Reincultur anzusprechen, der wechselnde Gehalt der grossen Mehrzahl der nicht nachweisbar

verunreinigten Eier an Schwefelwasserstoff und ein verhältnismässig sehr hoher Prozentsatz von verunreinigten Eiern. In Bezug auf diesen Thatbestand sei mir noch eine Bemerkung gestattet. Hammerl, der sich in seiner letzten einschlägigen Arbeit[1]) über das gleiche Ergebnis in Betreff dieses letzten Punktes bei den Pfeiffer'schen Beobachtungen wundert, ist der Ansicht, dass die Verunreinigung der Eier in den meisten Fällen bei dem Impfact geschieht. Ich glaube indessen, dass in Berlin ein grosser Theil der verunreinigt gefundenen Eier schon inficirt ist vor der Oeffnung, und dass sich so der Unterschied in dem Procentsatz verunreinigter Eier zwischen Berlin und Orten, wo ohne Schwierigkeiten frische Eier zu haben sind, leicht genug als ein durch äussere Umstände bedingter aufklärt. Bei den oben mitgetheilten Untersuchungen sind von im Ganzen 79 geimpften Eiern 43 = 54,5 % verunreinigt gefunden worden; von 19 ungeimpften Eiern 6 = 31,5 %. Ich möchte aber noch einmal hervorheben, dass in Folge der sorgfältigen Untersuchung und der Ausscheidung der Eier bei dem geringsten Zweifel an ihrer Reinheit eine nicht unbeträchtliche Erhöhung des Prozentsatzes an Verunreinigungen entstehen müsste.

Der zweite Theil der mir gestellten Aufgabe bestand darin, zu untersuchen, ob die nach Einspritzung der Eierextracte am Leben gebliebenen Thiere eine tödtliche intraperitoneale Choleraimpfung überstehen würden. Wenn mit dieser Untersuchung, den positiven Ausfall derselben vorausgesetzt, etwas gegen die specifische Bedeutung der intraperitonealen Cholerainfection der Meerschweinchen bewiesen werden sollte, musste nach den damals gerade von R. Pfeiffer[2]) veröffentlichen Untersuchungsergebnissen und den an dieselben geknüpften Forderungen ein Zeitraum von wenigstens 14 Tagen zwischen den beiden Impfungen

1) Hammerl. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. XVIII, 1 Heft.

1) R. Pfeiffer. Ueber die spec. Bedeutung der Choleraimmunität. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. XVII.

liegen. Dieser Umstand, das Gebundensein an eine bestimmte Zeit der Nachimpfung, und der Uebelstand, dass zu dieser Zeit die Cholera Wittenberge, die jüngste Cultur, die mir zur Verfügung stand, ausserordentlich geringe und dazu noch rasch abnehmende Virulenz, wie überhaupt beträchtliche Schwankungen der letzteren zeigte, sind die Ursachen geworden für eine Reihe von Misserfolgen derart, dass sehr häufig die extractgeimpften Thiere mit Choleradosen geimpft wurden, an denen auch die Controlthiere nicht eingingen. Es müssen daher von den oben aufgeführten Thieren eine ganze Anzahl ausscheiden. Später wurde dann stets ein Mehrfaches der am Tage vorher bestimmten Minimaldosis injicirt und so befriedigende Resultate erhalten, wenn auch die Zahl der eingegangenen Thiere dadurch eine grössere geworden ist. In der nun folgenden Tabelle sind die Ergebnisse dieser Untersuchung übersichtlich zusammengestellt. Die Nummern der Thiere sind dieselben, wie diejenigen, unter denen die Thiere bei der ersten Impfung verzeichnet sind, so dass eine Vergleichung sehr wohl stattfinden kann. (Folgt Tabelle auf S. 387, 388 u. 389.)

Die Besprechung der in diesen Versuchen erhaltenen Resultate möchte ich mit den bei den ungeimpften Eiern erhaltenen beginnen. Die fünf zur Verfügung stehenden Thiere wurden zu verschiedenen Zeiten nach der Impfung, und zwar eines am 9., zwei am 15. und zwei am 20. Tage nachher mit der einfachen tödtlichen Minimaldosis geimpft. Das am 9. Tage geimpfte starb schon nach $5\frac{1}{2}$ Stunden, die übrigen wurden 19 Stunden nach der Impfung in derselben Weise wie die Controlthiere todt aufgefunden. Es hat sich also bei den mit dem Extract ungeimpfter Eier injicirten Thieren ein Impfschutz zu keiner der geprüften Zeiten nachweisen lassen.

Die Thiere dagegen, welche mit Extracten aus geimpften Eiern behandelt waren, wurden mit verschiedenen Multiplis der

1) Untersuchungen über intraperitoneale Cholerainfection und Choleraimmunität. Archiv f. Hygiene, Bd. XXI, 4. Heft.

Nr.	Injicirt mit Extract in ccm	am	niedrigste damals beobacht. Temperat.	Gewichtsverlust damals	Datum der Chol.-Impf.	Gewicht vorher	Temp. vorher	Menge des Impfstoffes	Temperaturen nach 2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	Erfolg	Gewichtsverlust der überlebenden
13	1,0 ccm Choleraeier	14. IV.	38,0	± 0,	1. V.	568 g	38,5	1/3 Ch Ag.C. 24 St alt	34,8	33,0	†				
14	2,0 ,, ,,	,,	38,0	± 0,	,,	510 g	38,4	,,	35,0	35,5	35,5	33,0	†		
15	3,0 ,,	,,	37,4	— 16 g	,,	530 g	38,3	,,	35,4	34,0	†				
16	4,0 ,,	,,	36,9	— 15 g	,,	564 g	38,3	,,	37,8	35,0	33,0	34,0	37,6	lebt	— 4 g 1.
17	5,0 ,, ,,	,,	36,4	— 14 g	,,	530 g	38,1	,,	37,0	34,0	34,0	34,5	36,5	,,	— 40g 2.
18	5,0 ccm conc. Cholera-Ei-Extract	,,	36,0	— 25 g	,,	485 g	38,4	,,	38,0	39,0	37,8	36,5	38,0	,,	— 5 g 1.
19	4,0 ,,	,,	37,7	— 28 g	,,	560 g	38,1	,,	37,0	36,5	35,4	35,0	37,0	,,	† 0, 1.
20	3,0 ,,	,,	37,0	— 20 g	,,	564 g	38,4	,,	36,0	35,5	34,5	34,0	36,0	,,	— 34g 1.
21	2,0 ,,	,,	38,2	— 14 g	,,	545 g	38,1	,,	38,0	37,5	36,4	35,5	37,9	,,	— 5 g 1.
22	1,0 ,,	,,	37,4	— 25 g	,,	540 g	38,3	,,	39,0	37,0	35,5	34,5	†		
				Controlthiere : 1.	,,	494 g	38,2	,,	36,0	35,8	34,0	34,0	†		
				2.	,,	640 g	38,4	1/4 ,,	36,5	35,5	35,0	34,5	†		
				3.	,,	700 g	38,5	1/6 ,,	38,5	36,5	35,0	35,2	36,5	(† n. 48 St. a. Chol.)	
				4.	,,	700 g	38,6	1/8 ,,	38,0	38,0	36,5	36,0	38,5	lebt	— 40g 1.
41	1,0 ccm Eigelb Danubic.	17. IV.	37,5	+ 5 g	2 V.	418 g	38,2	1/2 Chol. Ag. C. 24 Std alt	34,2	33,0	30,0	—	†		
42	2,0 ,,	,,	37,9	± 0,	,,	408 g	38,1	,,	34,5	34,2	33,5	34,5	36,0	lebt	— 40g 2.
43	3,0 ,,	,,	37,0	— 10 g	,,	400 g	38,2	,,	35,4	35,0	35,5	35,8	37,5	,,	— 45g 2.
44	4,0 ,,	,,	37,5	— 10 g	,,	368 g	38,1	,,	34,0	32,0	30,0	29,0	†		
45	5,0 ,,	,,	37,6	— 5 g	,,	360 g	38,2	,,	33,0	32,0	30,0	28,5	†		
46	1,0 ccm Eiweiss Danubic.	,,	38,0	— 5 g	,,	360 g	38,1	,,	35,0	32,5	31,2	26,0	†		
47	2,0 ,,	,,	37,9	— 5 g	,,	370 g	38,0	,,	35,4	34,0	32,0	30,5	†		
49	4,0 ,,	,,	37,4	± 0,	,,	370 g	38,2	,,	35,8	34,5	31,5	34,0	34,0	† n. 48 St.	— 80g 2.

Nr.	Injicirt mit Extract in ccm	am	niedrigste damals beobacht. Temperat.	Gewichtsverlust damals	Datum der Chol.-Impf.	Gewicht vorher	Temp. vorher	Menge des Impfstoffs	Temperaturen nach 2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	Erfolg	Gewichtsverlust der überlebenden
				Controlthiere: 1.	2. V.	430 g	38,0	½ Chol. Ag. C. 24 Std. alt	31,5	30,0	26,0 †½ St. spät.				
				2.	„	420 g	38,0	¼ „	32,0	31,0	30,0	—	†		
				3.	„	420 g	38,4	⅛ „	38,5	36,0	34,5	34,0	†		
				4.	„	400 g	38,1	1/16 „	38,7	39,6	37,2	36,4	37,8	lebt	
59	1,0 ccm Eigelb Berol.	18. IV	36,9	— 30 g	21. V.	590 g	38,0	½ „	36,0	34,0	32,0	†			
60	2,0 „	„	37,2	— 10 g	„	620 g	38,1	„ „	38,4	38,0	37,2	36,5	36,5	lebt	— 90g 1.
61	3,0 „	„	37,9	— 30 g	„	595 g	38,5	„ „	38,7	37,0	36,5	35,8	36,9	„	— 45g 1.
62	4,0 „	„	38,0	— 40 g	„	570 g	38,0	„ „	37,2	36,4	35,0	34,5	32,0	† n. 40 St	— 25g 1.
63	5,0 „	„	37,0	— 45 g	„	510 g	38,1	„ „	38,0	36,5	34,0	35,0	32,0	† n. 72 St	— 110g 3.
64	1,0 ccm Eiweiss Berol.	„	37,5	± 0,	„	550 g	38,1	„ „	37,8	36,2	34,0	31,0	†		
66	3,0 ccm Eiweiss Berolin.	18. IV.	37,0	— 20 g	21. V.	585 g	38,0	½ Chol. Ag. C. 24 Std. alt	37,8	38,5	37,6	36,8	35,0	lebt	— 65g 2
67	4,0 „	„	37,6	— 25 g	„	510 g	38,6	½ „	38,0	38,0	36,0	33,0	†		
68	5,0 „	„	37,0	± 0,	„	570 g	38,0	½ „	37,0	36,0	33,0	29,0	†		
				Controlthiere: 1.	„	600 g	38,0	½ „	36,0	34,5	32,0	—	†		
				2.	„	610 g	38,5	¼ „	36,2	34,0	31,0	—	†		
				3.	„	635 g	38,2	⅛ „	35,0	34,0	33,5	—	†		
				4.	„	600 g	38,4	1/16 „	37,6	38,7	37,0	35,0	35,8	† n. 72 St.	— 120g 3.
76	1,0 ccm Eigelb V.-Dunbar	23. IV.	37,0	— 40 g	29. V.	434 g	38,2	½ Chol. Ag. C. 24 Std. alt	38,1	37,9	36,0	—	38,0	lebt	— 14g 1.
77	2,0 „	„	37,1	— 32 g	„	410 g	38,0	„ „	38,0	35,0	35,0	—	†		
78	3,0 „	„	35,9	— 30 g	„	440 g	38,2	„ „	38,0	37,5	36,0	—	37,9	„	— 10g 1.

Nr.	Injicirt mit Extract in ccm	am	niedrigste damals beobacht. Temperat.	Gewichtsverlust damals	Datum der Chol.-Impf.	Gewicht vorher	Temp. vorher	Menge des Impfstoffes	Temperaturen nach 2 St.	4 St.	6 St.	8 St.	19 St.	Erfolg	Gewichtsverlust der überlebenden
79	4,0 ccm Eiweiss V. Dunbar	23. IV.	36,5	— 45 g	29. V.	420 g	38,2	$^1/_2$ Chol. Ag. C. 24 Std. alt	37,0	35,5 † n. 5 Std.					
80	5,0 „	„	35,5	— 35 g	„	440 g	38,1	„ „	38,0	35,8	35,0	—	†		
81	1,0 „	„	36,8	— 35 g	„	442 g	38,1	„ „	37,8	36,8	35,5	—	37,0	lebt	— 12g 1.
82	2,0 „	„	36,8	— 30 g	„	425 g	38,2	„ „	38,4	37,0	36,2	—	37,5	„	— 25g 2.
83	3,0 „	„	36,2	— 30 g	„	460 g	38,0	„ „	38,0	37,5	36,2	—	36,0	† n. 50 St.	— 10g 1.
	Controlthiere: 1.				„	420 g	38,2	„ „	37,0	35,8	34,0	—	†		
	2.				„	470 g	38,1	$^1/_4$ „	37,0	36,4	35,5	—	†		
	3.				„	450 g	38,0	$^1/_8$ „	38,0	36,5	36,0	—	37,0	lebt	— 45g 1.
	4.				„	395 g	38,0	$^1/_{16}$ „	39,0	38,4	35,5	—	†		
86	1,0 ccm ungeimpft. Eier	21. V.	37,8	± 0,	5. VI.	356 g	38,0	$^1/_4$ „	38,1	37,4	36,9	35,0	†		
87	2,0 „	„	37,9	— 10 g	10. VI.	418 g	38,2	$^1/_4$ „	37,0	37,0	36,5	35,8	†		
88	3,0 „	„	38,0	± 0,	30. V.	335 g	38,0	$^1/_4$ „	36,8	36,0	†				
89	4,0 „	„	37,9	+ 12 g	10. VI	430 g	38,1	$^1/_4$ „	38,3	38,0	37,0	35,5	†		
90	5,0 „	„	37,8	— 10 g	5. VI.	345 g	38,0	$^1/_4$ „	38,0	37,2	36,8	34,5	†		
	Controlthiere zum 30. V.: 1.				30. V.	390 g	38,2	$^1/_2$ „	36,8	36,0	32,0	—	†		
	2.				„	400 g	38,1	$^1/_4$ „	39,0	37,1	35,5	—	†		
	3.				„	360 g	38,0	$^1/_8$ „	37,8	37,0	35,9	—	37,5	lebt	— 20g 1.
	Controlthiere zum 5. VI.: 1.				5. VI.	520 g	38,0	$^1/_2$ „	38,0	36,4	35,0	—	†		
	2.				„	490 g	38,3	$^1/_4$ „	36,0	37,0	36,0	—	†		
	3.				„	504 g	38,3	$^1/_8$ „	38,5	37,0	36,5	—	37,8	„	— 50g 2.
	Controlthiere zum 20. VI.: 1.				10. VI	480 g	38,0	$^1/_2$ „	38,2	37,0	35,5	—	†		
	2.				„	450 g	38,1	$^1/_4$ „	37,2	36,8	34,5	—	†		
	3.				„	420 g	38,0	$^1/_8$ „	38,3	39,0	37,0	—	37,6	„	— 60g 2.

für Controlthiere tödtlichen Dosis vergiftet; die mit Choleraextract geimpften mit dem doppelten, die mit dem Eiextract des Vibrio Danubicus vorbehandelten leider mit dem Vierfachen, die »Berolinensis«-Thiere sogar mit dem Fünffachen, die »Dunbar«-Meerschweinchen mindestens mit dem Doppelten der an gleichalterigen Controlthieren erhärteten Minimaldosis. Trotz dieser zum Theil sehr grossen Dosen blieben von allen Gruppen einige Thiere am Leben: von der »Cholera«-Gruppe von zehn Thieren sechs bei einer Vornahme der Nachimpfung am 17. Tage; von der »Danubicus«-Gruppe von acht Thieren zwei bei Vornahme der Nachimpfung am 15. Tage; von der »Berolinensis«-Gruppe von neun Thieren drei, bei einem Zwischenraume von 33 Tagen zwischen beiden Impfungen; und endlich von der »Dunbar«-Gruppe von acht Thieren vier bei einem Intervall von 36 Tagen. Bei der Choleragruppe sind es die mit grossen Dosen behandelten Thiere, welche am Leben bleiben, bei den übrigen drei Vibrionenarten wunderbarerweise gerade umgekehrt die mit mittleren und kleinen Giftmengen vorbehandelten. Einen einleuchtenden Grund für dies auffallende Verhalten vermag ich nicht anzugeben.

Bei einem grösseren Thiermaterial hätte man vielleicht zunächst bei einigen Thieren den günstigsten Zeitpunkt für die Nachimpfung feststellen und dann den Rest zu diesem Termin der Choleraimpfung unterziehen können, und man würde dann vielleicht eine grössere Zahl positiver Resultate zu verzeichnen gehabt haben. Immerhin genügt das erhaltene Ergebnis zur Feststellung der Thatsache, dass es gelingt, mit Eiextracten einiger von den Cholerabacterien zum Theil deutlich differenter Vibrionen eine verhältnismässig lange dauernde und sehr ausgesprochene Immunität gegen die intraperitoneale Impfung mit lebendem Choleramaterial zu erzielen. Damit wäre die Identität der in den Eiern von den verschiedenen Vibrionen gebildeten Giftstoffe nach dem Stande unserer heutigen Kenntnisse höchst wahrscheinlich gemacht.

Dies Ergebnis steht im Einklang mit den von mir in dieser Zeitschrift kürzlich mitgetheilten Versuchen, die specifische Bedeutung der auf intraperitonealem Wege bei Thieren erzeugten sogenannten Choleraimmunität betreffend, und kann als ein weiterer Beleg für die Anschauung dienen, dass der intraperitonealen Cholerainfection und Choleraimmunität eine specifische Bedeutung nicht zukommt.

Zum Schlusse fühle ich mich verpflichtet, dem Director des hygienischen Instituts der Universität Berlin, Herrn Professor Rubner, meinem hochverehrten Chef, meinen herzlichsten Dank für sein Interesse und seine Unterstützung bei Ausführung dieser Arbeit auch an dieser Stelle auszudrücken.

Zur Frage der Stellung des Caseïns bei der Milchsäuregährung.

Von

Prof. Dr. Gustav Kabrhel.

Unter dem Titel »Ueber die Beziehungen der Phosphate und des Caseïns zur Milchsäuregährung« ist im Archiv für Hygiene Bd. 18 S. 1 eine Abhandlung von Dr. Timpe erschienen, in welcher der Autor zwar meine Behauptung[1], nach welcher die in der Milch sich bildende Milchsäure mit dem Caseïn der Milch eine chemische Verbindung eingeht, wodurch ihre den weiteren, von den Mikroorganismen abhängigen Gährungsvorgang hemmende Einwirkung beseitigt wird, anerkennt, aber als nicht experimentell fundirt darstellt.[2])

Dieser Behauptung gegenüber muss Folgendes erwidert werden. In meiner Abhandlung ist eine Versuchsreihe angeführt, welche wahrscheinlich von dem Verfasser übersehen worden ist, welche aber den oben citirten Einwand ausschliesst.

Diese Versuchsreihe will ich wörtlich citiren:

»Die Versuche der zweiten Reihe wurden in der Weise ausgeführt, dass frisch geholte Milch, welche gewöhnlich schwachsaure Reaction zeigte, bei dem Kochen aber noch nicht gerann, mit Kalilauge neutralisirt wurde, so dass ein Tropfen meiner

1) Allg. Wiener medic. Zeitung, 1889, Nr. 52 u. 53.
2) Archiv f. Hygiene, Bd. XVIII, S. 5.

$^1/_5$ normalen Kalilauge bei Gegenwart von Phenolphthaleïn rothe Färbung hervorrief. Nun wurden 50 ccm dieser Milch mit einer bestimmten Menge titrirter Milchsäure versetzt und titrirt. So wurde festgestellt, dass die zugesetzte Menge der Milchsäure in der Milch genau durch Titration gefunden werden konnte.

Dann wurden mehrere Kölbchen mit 100 ccm der neutralisirten[1]) Milch und jedes derselben mit verschiedenen Mengen titrirter Michsäure portionsweise bei ununterbrochenem Schütteln versetzt.

Ich will wieder einen Versuch anführen:

2. August 1889: Drei Kölbchen wurden mit 100 ccm frischer Milch gefüllt und mit Natronlauge neutralisirt, worauf der Zusatz der titrirten Milchsäure erfolgte. Die Milchsäure war so vorbereitet, dass 10 ccm 42,2 ccm meiner Natronlauge verbrauchten.

Die angesäuerte Milch wurde abfiltrirt und die Acidität des Filtrats bestimmt.

α) Zu 100 ccm Milch wurden 7 ccm der titrirten Milchsäure zugesetzt:

Acidität der Milch in 50 ccm = 13,7 ccm Kalilauge,
» des Filtrats in 50 » = 8,5 » » .

β) Zu 100 ccm Milch wurden 10 ccm der titrirten Milchsäure zugesetzt:

Acidität der Milch in 50 ccm = 19,2 ccm Kalilauge,
» des Filtrats in 50 » = 12,2 » » .

γ) Zu 100 ccm Milch wurden 15 ccm der titrirten Milchsäure zugesetzt:

Acidität der Milch in 50 ccm = 32,18 ccm Kalilauge,
» des Filtrats in 50 » = 19,85 » » .

In allen angeführten Versuchen erscheint somit die Acidität des Filtrats kleiner als die Acidität der ganzen Milch.

---

1) Im Original steht »sterilisirten«, was aber ein Druckfehler ist.

Man kann also aus diesen Versuchen den Schluss ziehen, dass das Caseïn die Eigenschaft besitzt, sich mit der Milchsäure zu verbinden, und dass es dadurch neutralisirend wirkt.«

Den in diesem Citate in den letzten Zeilen angeführten Schluss will ich näher besprechen.

Es muss zunächst Folgendes bemerkt werden. Aus dem citirten Texte ist zu entnehmen, dass selbstverständlich, indem gesagt wird: »Das Caseïn habe die Eigenschaft, sich mit der Milchsäure zu verbinden«, dasselbe in demjenigen Zustande, in welchem es sich in der frischen Milch, nämlich vor dem Hinzutreten der Säure befindet, d. h. mit dem Alkali, welches unter diesen Umständen, wie bekannt einen integrirenden Bestandtheil desselben bildet, verbunden, verstanden werden muss.

Timpe benützt im Gegentheil zu meiner Ausdrucksweise den Ausdruck Caseïn für denjenigen chemischen Zustand desselben, welcher erst bei Einwirkung von Säuren zu Stande kommt, d. h. für das des Alkali beraubte Caseïn.

Nach diesen Bemerkungen will ich zur näheren Besprechung der in dem Citate angeführten Versuche übergehen.

Aus diesen Versuchen geht hervor:

1. Wenn man schwachsaure Milch neutralisirt und dann mit titrirter Milchsäure versetzt, so kann die Menge der zugesetzten Säure durch Titration mit Kalilauge wieder gefunden werden.

2. Wenn man solche neutralisirte, dann mit titrirter Milchsäure versetzte Milch filtrirt und die Acidität des Filtrats prüft, so weist dasselbe beträchtlich weniger der Säure auf, als zugesetzt wurde.

Da also bei Anwesenheit des Caseïns durch Titration grössere Acidität gefunden werden kann, bei Abwesenheit desselben in dem Filtrate geringere Acidität zum Vorschein kommt, so ist dadurch bewiesen, dass die Milchsäure auf das Caseïn der neutralen Milch chemisch einwirkt, d. h. mit demselben eine chemische Verbindung eingeht, wodurch ein Theil der zugesetzten Milchsäure gebunden wird.

Denn auch der Einwand, dass, wenn die in der Milch befindlichen phosphorsauren Salze einen Theil ihres Alkali zur Neutralisation der zugesetzten Säure abgeben, die Acidität des Filtrates dadurch geschmälert wäre, hat in diesem Falle keine Geltung. Denn sollte dies der Fall sein, dann müssten die phosphorsauren Salze der mit Milchsäure versetzten Milch als Niederschlag auf dem Filter bleiben, was aber in Anbetracht der sauren Reaction nicht zutreffen kann.

Nun findet Timpe, dass der in Frage stehende Vorgang darin besteht, dass einerseits das Alkali des Caseïns bei Einwirkung der Milchsäure abgespalten wird und, sich mit der letzteren verbindend, neutralisirend wirkt, andererseits, dass noch das des Alkali beraubte Caseïn sich mit der Milchsäure chemisch verbindet und dadurch weiter zur Neutralisation der Säure beiträgt.

In Anbetracht des Umstandes, dass das Alkali des Caseïns die Fähigkeit besitzt, die Milchsäure zu binden — in diesem Sinne muss seine gegen mich gewendete Argumentation verstanden werden — kann die Aciditätsdifferenz in meinen Versuchen durch das Abspalten des Alkali gedeutet werden, und es ist also der Schluss, dass das Caseïn mit der Milchsäure eine Verbindung eingeht, nicht genügend experimentell fundirt.

Ich will das Vorgehen Dr. Timpe's mit einem Beispiele beleuchten: A findet, dass Salzsäure durch Calciumcarbonat neutralisirt wird, und zieht in Anbetracht dieser Thatsache den Schluss, dass diese Erscheinung durch ein chemisches Verbinden beider Stoffe bedingt ist, oder anders gesagt, dass das Calciumcarbonat die Fähigkeit besitzt, die Salzsäure zu binden.

Dann kommt B und untersucht wieder denselben Vorgang und findet, dass bei Neutralisation der Salzsäure sich die in dem Calciumcarbonat enthaltene Base abspaltet und die Neutralisation bewirkt. Nun zieht B den weiteren Schluss: weil eben die sich spaltende Base die Neutralisation bewirkt, ist der Schluss des Forschers A, Calciumcarbonat habe die Fähigkeit, sich mit der Salzsäure zu verbinden, oder anders gesagt, dieselbe zu binden, nicht richtig.

Ich will es dem Urtheile des Lesers anheim stellen, ob man einer solchen Schlussfolgerung beistimmen könnte.

Aehnlich verhält es sich mit meiner Behauptung betreffs der Rolle des Caseïns bei der Milchgährung. Ich habe die allgemeine und fundamentale Thatsache, dass das Caseïn sich mit der sich bildenden Milchsäure verbindet, nachgewiesen.

Wie und in welcher Weise sich dieser chemische Vorgang abspielt, ob das Alkali des Caseïns oder auch das des Alkali beraubte Caseïn dabei im Spiele ist, diese Frage wurde erst durch die Versuche Timpe's in Angriff genommen.


BIOLOGY
LIBRARY
754893
RA421
A75
v.22
PUBLIC
HEALTH
LIBRARY
UNIVERSITY OF CALIFORNIA LIBRARY



